

Série A; N° 1045

N° d'ordre : 1884

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

le Grade de Docteur ès-Sciences Naturelles

PAR

Pierre DOMBRAY

Licencié ès-Sciences Naturelles

Préparateur d'Histoire naturelle médicale et de Parasitologie
à la Faculté de Médecine de Nancy



1^{re} THÈSE : Contribution à l'étude des corps oléiformes
des hépatiques des environs de Nancy.

2^e THÈSE : Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 18 MAR 1926 devant la Commission d'Examen

MM. RABAUD	Président.
DANGEARD	} Examinateurs.
DEREIMS	



SOCIÉTÉ D'IMPRESSIONS TYPOGRAPHIQUES
NANCY

Série A ; N° 1045

N° d'ordre : 1884

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

le Grade de Docteur ès-Sciences Naturelles

PAR

Pierre DOMBRAY

Licencié ès-Sciences Naturelles

Préparateur d'Histoire naturelle médicale et de Parasitologie
à la Faculté de Médecine de Nancy



1^{re} THÈSE : Contribution à l'étude des corps oléiformes
des hépatiques des environs de Nancy.

2^e THÈSE : Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 8 MAR 1926 devant la Commission d'Examen

MM. RABAUD	Président.
DANGEARD	} Examinateurs.
DEREIMS	



SOCIÉTÉ D'IMPRESSIONS TYPOGRAPHIQUES
NANCY

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen

M. MOLLIARD, *Professeur*. Physiologie végétale.

Doyen honoraire.....

P. APPELL.

Professeurs honoraires.

P. PUISEUX.

V. BOUSSINESQ.

A. JOANNIS.

H. LE CHATELIER.

H. LEBESGUE.

A. FERNBACH.



Emile PICARD.... Analyse supérieure et algèbre supérieur.
 J. KÖNIGS..... Mécanique physique et expérimentale.
 E. GOURSAT..... Calcul différentiel et calcul intégral.
 P. JANET..... Electrotechnique générale.
 F. WALLERANT.... Minéralogie.
 H. ANDOYER..... Astronomie.
 P. PAINLEVÉ..... Mécanique analytique et mécanique céleste.
 E. HAUG..... Géologie.
 Gabriel BERTRAND. Chimie biologique.
 M^{me} P. CURIE.... Physique générale et radioactivité.
 M. CAULLERY.... Zoologie (Evolution des êtres organisés).
 C. CHABRIÉ..... Chimie appliquée.
 G. URBAIN..... Chimie minérale.
 Émile BOREL.... Calcul des probabilités et physique mathématique.
 L. MARCHIS..... Aviation.
 Jean PERRIN.... Chimie physique.
 H. ABRAHAM.... Physique.
 E. CARTAN..... Géométrie supérieure.
 L. LAPICQUE.... Physiologie générale.
 E. VESSIOT..... Théorie des groupes et calcul des variations.
 A. COTTON..... Physique générale.
 J. DRACH..... Application de l'analyse à la géométrie.
 Charles FABRY.. Physique.
 Charles PÉREZ.. Zoologie.
 A. LEDUC..... Physique théorique et physique céleste.
 Léon BERTRAND. Géologie appliquée et géologie régionale.
 R. LESPIEAU.... Théories chimiques.
 E. RABAUD..... Biologie expérimentale.
 P. PORTIER..... Physiologie comparée.
 É. BLAISE..... Chimie organique.
 P.-A. DANGEARD. Botanique.
 C. MAURAIN.... Physique du globe.
 P. MONTEL..... Mécanique rationnelle.
 P. WINTREBERT.. Anatomie et histologie comparées.
 O. DUBOSQ..... Biologie maritime.
 M. TIFFENEAU... Chimie (Enseignement P. C. N.).
 G. JULIA..... Mathématiques générales.
 A. JOB..... Chimie générale.
 N. Géographie physique.
 E. HÉROUARD.... Zoologie.
 Rémy PERRIER.. Zoologie (Enseignement P. C. N.).
 G. SAGNAC..... Physique théorique et physique céleste.
 E. PÉCHARD.... Chimie (Enseignement P. C. N.).
 V. AUGER..... Chimie analytique.
 M. GUICHARD... Chimie minérale.
 A. GUILLET.... Physique.
 C. MAUGUIN.... Minéralogie.
 L. BLARINGHEM.. Botanique.
 A. MICHEL-LÉVY. Pétrographie.
 A. DEREIMS.... Géologie.
 R. DONGIER.... Physique du globe.

Professeurs

Secrétaire. Daniel TOMBECK..

AVANT-PROPOS

C'est à la suite d'observations, faites dans les feuilles du Radula complanata, que nous avons conçu le projet de cette thèse.

Au centre de chaque cellule de cette plante, nous voyons un corps arrondi, de couleur brune, dans lequel s'agitent de nombreuses petites granulations réfringentes. De quelle nature est ce corps?

Dans les traités de Botanique, il porte le nom d' « Oelkörper ». Et ce mot allemand exprime l'apparence oléagineuse que certains auteurs lui attribuent. On le traduira avantageusement par corps oléiformes.

Ainsi, sans présenter de phénomènes de dégénérescence, toutes les cellules d'une même Hépatique possèdent des corps volumineux, rappelant une émulsion fine de globules de graisse, animés de mouvements rapides.

A notre connaissance, ces faits ne se rencontrent point chez les autres plantes vertes, à moins qu'on ne leur assimile diverses accumulations de déchets ou de réserves dans les cellules.

Pressentant que ce phénomène insolite pouvait jeter un

jour nouveau sur la biologie cellulaire et n'ayant tiré de la bibliographie qu'une documentation insuffisante, nous nous sommes proposé d'approfondir le problème, en étudiant les propriétés et les modifications des corps oléiformes chez le *Radula complanata* et en étendant nos recherches aux autres Hépatiques.

INTRODUCTION

HISTORIQUE

Ces corps réfringents furent remarqués pour la première fois, en 1835, par un savant français, MIRBEL. Ce n'est qu'en 1843 que GOTTSCHÉ en fit de nouveau l'observation. Mais leur étude détaillée ne date que des travaux de PFEFFER, en 1874, de WAKKER en 1888, de Von KUSTER en 1894 et de MEYER en 1920. Ces savants décriront les corps oléiformes comme des grains d'amidon ou des gouttes oléagineuses en émulsion. PFEFFER écrivait que, sous l'action de l'alcool étendu au tiers, les corps oléiformes du *Radula complanata* quittaient l'état d'émulsion pour se réunir en une grande goutte au centre d'un stroma albumineux. Solubles dans l'alcool, le benzol, l'éther, ces corps oléiformes, selon cet auteur, ne disparaissaient pas à l'ébullition. Se basant sur ces propriétés, PFEFFER pensait que ces corps étaient constitués par un mélange d'« huile grasse » et d'eau. Au contraire, LOHMANN indiqua des réactions chimiques différentes des précédentes et affirma leur nature « d'huile essentielle ».

Au point de vue anatomo-histologique, PFEFFER et WAKKER admettaient la présence d'un stroma albumineux et d'une membrane de coagulation. Von KUSTER parlait de membrane plasmique. MEYER niait toute membrane. GARJEANNE n'admettait pas la présence de réticulum et de membrane.

L'origine des corps oléiformes fut attribuée à diverses causes. Pour PFEFFER, ils naissaient d'une façon spontanée dans le protoplasme, aux dépens de gouttelettes grasses. Les corps oléiformes représentaient des chloroplastes dégénérés pour WAKKER; GARJEANNE en voyait les jeunes stades sous forme de petites vacuoles.

Enfin il ne restait plus qu'à rechercher quel rôle jouaient, dans la biologie, ces produits cellulaires.

Considérés d'abord comme un simple produit d'excrétion, les corps oléiformes furent regardés, depuis les expériences de Stahl, en 1888, comme un moyen de défense contre les animaux. MOLISCH émit l'idée qu'ils pouvaient être assimilés à un écran lumineux.

Ce dernier auteur, en 1921, résume toutes ces longues controverses et n'ose pas conclure.

L'abbé BOULAY et HUSNOT reconnaissent les corps oléiformes comme des corps gras.

CASARES-GIL les nomme « cuerpos aceitosos », attestant ainsi leur nature grasse. Mais ce savant corrige immédiatement son expression en écrivant que la nature chimique de ces corps n'est pas nettement établie et qu'à leur sujet règnent les opinions les plus contradictoires.

A la fin de l'an 1921, KOZLOWSKI parle encore des oléoplastes des Hépatiques.

Dans son livre des Hépatiques de Suisse, MEYLAN admet que les corps oléiformes sont formés d'huile essentielle.

Les traités classiques de Van TIEGHEM et BONNIER, sobres en description des « oelkörper », enseignent les idées de PFEFFER sur leur nature grasse et leur constitution albumineuse.

ÉTAT ACTUEL DE LA QUESTION

En face de ces affirmations contradictoires, l'état actuel de la question des corps oléiformes nous parut assez confuse. La présence de ces corps est notée par certains auteurs et niée par d'autres, chez diverses Hépatiques.

Au point de vue morphologique, nous ne possédons que les dessins de WARNSTORF et ceux de MULLER. Mais ces renseignements paraissent très imprécis et incomplets.

L'étude anatomo-histologique semble faite d'une façon un peu superficielle et n'apporte pas de faits précis.

Quant à leur nature physico-chimique, les résultats différents, obtenus par les auteurs, laissent planer le doute dans les esprits.

Partant de ces considérations, nous voyons les auteurs aboutir à des théories multiples sur l'origine et l'évolution des corps oléiformes.

Et, pour finir, aucune entente entre eux sur le rôle biologique de ces produits cellulaires.

Tel est l'état actuel de la question des corps oléiformes chez les Hépatiques.

PLAN

Nous voulons reprendre cette étude d'ensemble et essayer d'apporter des faits précis en utilisant toutes les ressources que le laboratoire met actuellement à notre disposition.

Nous étudierons successivement :

1° Les caractères généraux des corps oléiformes chez les Hépatiques de la région de Nancy.

2° La nature des corps oléiformes.

3° Leur cycle ontogénétique (origine, développement, apogée, déclin, mort).

4° L'influence du milieu.

RÉCOLTE DES MATÉRIAUX

Nos observations portèrent sur les Hépatiques des environs de Nancy. Au début de nos excursions, nous avons suivi les promenades de COPPEY, relatées dans le Bulletin de la Société des Sciences de Nancy. Ce savant laissa, au Laboratoire de la Faculté des Sciences, un herbier des Hépatiques de Meurthe-et-Moselle et un grand herbier en vingt-cinq volumes des Hépatiques de France. Ces ouvrages nous furent d'un grand aide, pour déterminer les Hépatiques, la plupart du temps dépourvues d'appareil fructifère. Le docteur GODRON, dans son catalogue des plantes cellulaires du département de la Meurthe, apporte des renseignements sur les stations où se trouvent ces plantes. Mais les limites des champs et des bois sont beaucoup modifiées. Les stations indiquées par ces savants n'existent pour ainsi dire plus. Il y a une modification notable dans la répartition des Hépatiques. L'industrie exploite les arbres et les sources. Avec leur support, les Hépatiques disparaissent; sans la fraîcheur des eaux, les Hépatiques meurent.

Au cours de nos multiples excursions, nous avons recueilli trente-trois Hépatiques. Elles appartiennent à tous les genres principaux des Hépatiques de France.

Dans les environs de Nancy, le climat très continental imprime un caractère spécial à la végétation. En ce qui concerne les Hépatiques, les organes de reproduction apparaissent rarement et la fructification est une exception. Aussi notre étude

portera principalement sur l'appareil végétatif de ces plantes.

Voici la liste des trente-trois espèces d'Hépatiques, avec l'indication de leurs stations les plus importantes :

1° JUNGEMANIALES

1° *Frullania dilatata* Dum., sur tous les arbres des forêts, principalement les Hêtres; sur les haies des jardins.

2° *Frullania Tamarisci* Dum., sur les arbres du plateau de Malzéville; à Belle-Fontaine, sur les arbres, situés dans le champ qui s'étend du chêne Bardeau au barrage du vieil étang.

3° *Radula complanata* Dum., sur tous les arbres, principalement les Hêtres.

4° *Radula complanata* var. *propagulifera*, sur les arbres du ruisseau de Belle-Fontaine.

5° *Scapania aequiloba* Dum., sur le haut des rochers de la Flie.

6° *Scapania aequiloba* var. *aspera*, sur les rochers de la Flie.

7° *Madotheca platyphylla* Dum., à droite de la route qui mène de Belle-Fontaine au chêne Bardeau; sur le versant sud-est du plateau de Malzéville.

8° *Plagiochila asplenoides* Dum., très répandue sur tous les rochers et pierres humides.

9° *Plagiochila interrupta* Dum., au début du sentier, appelé sentier du Haut-de-Lièvre; au début du sentier qui quitte perpendiculairement le chemin de la Grande Vacherie pour aboutir à l'emplacement du barrage du vieil étang.

10° *Lejeunea serpyllifolia* Lib., sur les pieds des arbres,

au début du chemin qui, aux fonds de la Flie, quitte la route du ford de Frouard pour monter vers Sexey-aux-Bois.

11° *Chiloscyphus polyanthus* Corda, dans les fossés du vieil étang, à Belle-Fontaine.

12° *Chiloscyphus polyanthus* var. *pallescens* Lindenb., dans les fossés du vieil étang, à Belle-Fontaine.

13° *Aplozia riparia* Dum., auprès du barrage du vieil étang.

14° *Lophocolea bidentata* Dum., très commune.

15° *Lophocolea heterophylla* Dum., sur les rochers de la Flie.

16° *Lophocolea heterophylla* var. *minor* Douin, le long du sentier qui monte depuis le chemin de Liverdun au plateau du Haut-de-Lièvre; le long du sentier qui descend vers Belle-Fontaine.

17° *Lophozia Muelleri* Dum., sur les rochers de la Flie.

18° *Lophozia Muelleri* var. *Hornschuchiana* Macoun, sur les rochers de la Flie.

19° *Pellia epiphylla* Corda, aux fonds de la Flie; dans le ravin de Pixérécourt.

20° *Pellia Fabroniana* Raddi, dans les fossés de la Flie.

21° *Pellia Fabroniana* form. *furcigera* Hook, dans les fossés de la Flie; dans les sources de Belle-Fontaine.

22° *Metzgeria furcata* Dum., très commune.

23° *Metzgeria furcata* var. *prolifera*, très commune.

24° *Metzgeria conjugata* Lindb., très commune.

25° *Aneura pinguis* Dum., depuis l'étang Hinzelin jusqu'à l'étang de la Cartonnerie, entre la route et le ruisseau; marais de Pixérécourt, en aval de la route, sur les bords du ruisseau; sur les bords du ruisseau de Chavenoy.

II. — MARCHANTIALES

a) Ricciacées

- 1° *Riccia glauca* L., marais de Pixérécourt.
- 2° *Riccia crystallina* L., près du barrage du vieil étang, à Belle-Fontaine.
- 3° *Riccia sorocarpa* Bisch., sur l'emplacement du vieil étang.

b) Marchantiacées

- 1° *Lumularia cruciata* Dum., serres du jardin botanique et le long de son mur de clôture, qui longe la rue du boulevard de la Pépinière.
- 2° *Marchantia polymorpha* L., le long du sentier qui mène du champ de tir des hussards à la Malmontée, entre les coupes M4 et C1.
- 3° *Preissia commutata* Lindenb., sur les rochers de la Flie.
- 4° *Fegatella conica* Corda, sur les rochers de la Flie et dans les serres du jardin botanique.

c) Anthrocérotales

Anthécérotacées: *Antheros lævis* L., sur les rochers de la Flie.

Telles sont les diverses Hépatiques que nous avons soumises à notre observation et à nos expériences.

TECHNIQUE

La technique que nous avons employée comporte plusieurs méthodes. A côté de l'examen des plantes sur le frais entre lame et lamelle, nous avons utilisé les colorants vitaux. Pour

fixer certains détails et procéder à une étude cytologique précise, nous avons traité les pièces par les fixateurs les plus variés et inclus à la paraffine.

Après de multiples essais, la méthode d'inclusion que nous avons employée est la suivante, pour les plantes de 5 millimètres de long et de large au maximum.

Nous plaçons l'objet pendant vingt-quatre heures dans l'alcool à 70°, que nous renouvelons toutes les huit heures. Puis, successivement, selon le même mode, dans l'alcool à 95°, l'alcool absolu et le toluène. Alors nous le mettons dans un bain de paraffine qui dure une heure, puis dans un autre bain pendant une heure. Enfin nous pratiquons l'inclusion définitive.

Nous avons fait des coupes entre 1 μ et 5 μ et nous les avons colorées à l'aide des colorants divers. Enfin, grâce aux réactions de la microchimie et à l'analyse chimique qualitative des plantes, nous avons pu mettre en évidence la nature réelle des corps oléiformes.

Comme appareil d'optique, nous avons utilisé :

1° Un microscope Leitz, avec condensateur Abbe, oculaire n° 6 et objectif à immersion 1/12 et 1/16.

2° Un microscope Zeiss avec Bitumi, condensateur aplanétique, objectif apochromatique 1 millim. 5, et oculaire K 12,5 (1).

3° Un ultramicroscope Zeiss avec condensateur cardioïde, objectif V homogène à la glycérine, apochromatique, oculaire compensateur K 20, cellule de quartz. La source lumineuse était une lampe à arc, automatique de 5 A (2).

(1) et (2) Les observations faites à l'aide de ces deux appareils ont eu lieu à la Faculté de Pharmacie de Nancy, au Laboratoire de Microbiologie, que dirige M. le Professeur Lasseur.

— II —

Au fur et à mesure du développement du sujet, nous préciserons ces différents points de la technique utilisée.

Les recherches consignées dans le présent mémoire ont été réalisées à Nancy, au laboratoire d'Histoire naturelle médicale et de Parasitologie de la Faculté de Médecine et au Laboratoire de Botanique de la Faculté des Sciences.

CHAPITRE PREMIER

CARACTÈRES GÉNÉRAUX

1° CARACTÈRES EXTÉRIEURS :

Présence, situation, forme, nombre, grandeur

Depuis MIRBEL, qui vit le premier les corps oléiformes en 1835, jusqu'à nos jours, les auteurs recherchèrent de temps à autre ces corps réfringents dans les Hépatiques. Ils fournirent des tableaux plus ou moins contradictoires, les uns niant la présence de corps oléiformes chez certaines Hépatiques, les autres l'affirmant.

L'examen microscopique des Hépatiques des environs de Nancy nous a permis de constater d'une manière indubitable la présence de corps oléiformes chez toutes ces plantes, sauf chez l'*Anthoceros lævis*. Aussi nous n'étudierons point cette espèce.

Au cours de leurs observations, les auteurs indiquèrent la présence des corps oléiformes, mais ne décriront pas, si ce n'est d'une façon très superficielle, la forme de ces corpuscules réfringents, leur nombre, leur grandeur, leur situation intracellulaire ou dans les tissus de la plante.

C'est cette description que nous avons entreprise en suivant l'ordre de classification générale des Hépatiques.

I. — JUNGGERMANIALES

1° *Radula complanata* Dum. Prenons une cellule de la feuille (fig. 1, pl. I). Elle mesure $33\ \mu$ sur $44\ \mu$ et renferme environ 26 chloroplastes et un corps oléiforme central mesurant $22\ \mu$ sur $32\ \mu$. Celui-ci occupe la plus grande partie de la cellule. Il se présente sous une forme sphérique, à bords irréguliers. Il n'est pas homogène, mais est composé d'une grande quantité de petits corpuscules en suspension dans un liquide. Ces corpuscules très réfringents s'agitent d'une façon continue. Sa coloration est brune, plus ou moins foncée. Nous apercevons en général un seul corps oléiforme dans les cellules de la feuille, cependant nous en avons rencontré quelquefois deux. Suivant les cellules vers la tige, nous les voyons s'allonger, tandis que les corps oléiformes diminuent de volume et augmentent de nombre (fig. 2, 3, 4, 5, 6, pl. I). Nous observons le même phénomène au niveau des cellules des feuilles portant les rhizoïdes (fig. 7, pl. I). Les corps oléiformes deviennent arrondis, puis ovales, selon la forme de la cellule. Ils orientent leur grand axe suivant celui de la cellule.

Cette morphogenèse paraît beaucoup plus nette au niveau du pédicelle. Celui-ci s'étire dans de grandes proportions; alors toutes les cellules ainsi que les corps oléiformes s'allongent suivant le sens de la traction.

A maturité nous voyons à l'intérieur de cellules longues de $95\ \mu$ sur $25\ \mu$ de large, un corps oléiforme long de $60\ \mu$ sur $4\ \mu$ de large (fig. 8, pl. I).

Lorsque les corps oléiformes deviennent nombreux ils émigrent vers les parois cellulaires; on peut en compter 3, 4, 6 ou 10. Vis-à-vis des autres éléments cellulaires, le corps oléi-

forme est entouré par une bande de cytoplasme où les chloroplastes lui constituent une couronne verte.

2° *Frullania dilatata* Dum., renferme dans toutes ses cellules plusieurs corps oléiformes. Une cellule ordinaire des feuilles mesure en moyenne 20 μ sur 25 μ . A son intérieur se voient des corps oléiformes arrondis ou ovales, mesurant en moyenne 3 μ de diamètre et quelquefois 3 μ sur 6 μ . Ils sont colorés en brun foncé et renferment une grande quantité de petits corpuscules animés d'un mouvement de trépidation. Au nombre de 4, 5 ils occupent la région moyenne de la cellule. Le reste de la cellule est occupé par le protoplasme où se rangent en cercle les chloroplastes (fig. 1, pl. II).

3° *Scapania aequiloba* Dum., possède des feuilles où les cellules mesurent en moyenne 14 μ sur 20 μ et renferment 2, 3 et quelquefois 4 corps oléiformes arrondis ou ovales, de coloration brun clair. Ceux-ci mesurent 6 à 8 μ de diamètre et sont constitués par des particules réfringentes, en suspension dans un liquide où elles se remuent d'une façon continue. Disposés au centre de la cellule, les corps oléiformes sont entourés de cytoplasme, où les chloroplastes se dessinent près de la paroi (fig. 2, pl. II).

4° *Madotheca platyphylla* Dum. A l'intérieur de cellules arrondies, possédant un diamètre de 35 μ sur 40 μ environ, nous voyons dans une zone concentrique à celle des chloroplastes 14 à 25 corps oléiformes ovales. Ils mesurent deux à trois μ de long sur 1 à 2 μ de large. Ils ne paraissent pas homogènes, mais constitués par quelques granules parfois bruns. Nous n'avons observé aucun mouvement de ces granules (fig. 3, pl. II).

5° *Plagiochila asplénoides* Dum. Les corps oléiformes

réfringents, au nombre de 5 en moyenne, se disposent en une zone concentrique et interne vis-à-vis des chloroplastes. Ils ont une forme ovale et sont mûriformes; ils paraissent constitués par 6 à 8 masses homogènes. Placés dans une cellule de 30 sur 36 μ , un peu ovales, ils orientent leur grand axe, en général, parallèle à un côté du polygone cellulaire et mesurent en moyenne 3 à 5 μ de large sur 5 à 9 μ de long. Très réfringents et incolores, les globules, qui les constituent, semblent immobiles (fig. 4, pl. II).

6° *Lejeunea serpyllifolia* Lib. Les cellules des feuilles mesurent en moyenne 25 μ sur 35 μ et possèdent des corps oléiformes au nombre de 25 environ, formant une couche concentrique aux chloroplastes périphériques. Très réfringents, ils mesurent 1 μ sur 3 μ et paraissent homogènes et incolores (fig. 5, pl. II).

7° *Chiloscyphus polyanthus* var. *pallesceus* Lindenb. Formées de cellules hexagonales de 45 μ environ, les cellules des feuilles montrent en général 5 corps oléiformes ovales. Ils mesurent environ 4 μ sur 10 μ . Chacun, placé en face d'une paroi de l'hexagone, oriente son grand axe parallèle à ce côté. Colorés en brun clair, ils paraissent constitués par des petits granules, immobiles (fig. 1, pl. III).

8° *Apozia riparia* Dum., possède des corps oléiformes arrondis, réfringents et homogènes, au nombre de trois en moyenne par cellule. Ils mesurent 10 μ sur 7 μ dans une cellule de 28 μ sur 39 μ en moyenne. Ils sont rejetés dans les angles de la cellule, mais séparés de la membrane par les chloroplastes (fig. 2, pl. III).

9° *Lophocolea bidentata* Dum. Petits ovoïdes de 3 μ sur 6 μ , les corps oléiformes occupent la périphérie de la cellule

qui mesure $22\ \mu$ sur $34\ \mu$. Ils s'orientent chacun parallèlement à une paroi cellulaire. Leur nombre est en moyenne de 3 par cellule; ils paraissent très réfringents et homogènes (fig. 3, pl. III).

10° *Lophocolca heterophylla* Dum., les cellules des feuilles sont grandes et mesurent $42\ \mu$ sur $49\ \mu$ de diamètre. Elles renferment en moyenne 5 corps oléiformes mesurant environ $3\ \mu$ sur $7\ \mu$. Ceux-ci sont orientés chacun respectivement parallèles à un côté de la paroi cellulaire. Ils paraissent constitués par une masse de granules réfringents, immobiles et incolores (fig. 4, pl. III).

11° *Lophocolca heterophylla var minor* Douin. Au nombre de quatre à cinq dans chaque cellule des feuilles, les corps oléiformes sont arrondis et composés de fins granules, animés de mouvement. Leur coloration semble un peu brunâtre. Ils sont orientés parallèles aux parois de la cellule. Celle-ci mesure $20\ \mu$ sur $21\ \mu$ et les corps oléiformes $2\ \mu$ sur $4\ \mu$ (fig. 5, pl. III).

12° *Lophozia Muelleri var. Hornschuchiana* Mac. La cellule moyenne des feuilles mesure $40\ \mu$ sur $24\ \mu$ et renferme trois à quatre corps oléiformes longs de $10\ \mu$ et larges de $5\ \mu$. Ils sont rectangulaires ou ovalaires et leur masse réfringente est formée de petits globules en mouvement (fig. 6, pl. III).

13° *Pellia Fabroniana form. furcigera* Hook. En moyenne 12 corps oléiformes réfringents se trouvent mélangés aux chloroplastes dans les cellules des feuilles, longues de $50\ \mu$ et larges de $40\ \mu$ environ. Arrondis, ils mesurent en moyenne $3\ \mu$ sur $6\ \mu$ et paraissent constitués par de petits granules, immobiles (fig. 1, pl. IV).

14° *Metzgeria conjugata* Lindb. Examinons une cellule de

la partie moyenne de son expansion foliaire. Elle se présente sous une forme cubique de $40\ \mu$ de large environ. Elle renferme, mélangés aux chloroplastes, plus volumineux, des petits corps oléiformes réfringents longs de $2\ \mu$ et larges d'un μ . Ils sont au nombre d'environ une trentaine (fig. 2, pl. IV).

15° *Aneura pinguis* Dum. Cette Hépatique possède dans la partie moyenne du thalle des cellules longues de $50\ \mu$ sur $40\ \mu$. Toutes renferment des corps oléiformes au nombre de 7 en moyenne. Ils sont arrondis et mesurent $4\ \mu$ de large sur $5\ \mu$ de long, mélangés sans ordre apparent aux chloroplastes. Ils renferment des petits granules (fig. 3, pl. IV).

II. — MARCHANTIALES

a) Ricciacées.

1° *Riccia glauca* L. Toutes les cellules, en moyenne longues de $60\ \mu$ et larges de $38\ \mu$, renferment des corps oléiformes arrondis de volumes divers selon leur état de développement. Les plus gros mesurent $4\ \mu$ à $5\ \mu$ (fig. 4, pl. IV).

b) Marchantiacées

1° *Lunularia cruciata* Dum. Avec cette Hépatique à thalle, nous connaissons une nouvelle répartition des corps oléiformes. Ce sont certaines cellules du thalle qui, seules, donnent naissance aux corps oléiformes.

Les cellules à corps oléiformes sont nombreuses et sont en moyenne au nombre de 5 au $400\ \mu^2$. Ces cellules, longues de $55\ \mu$ sur $42\ \mu$, renferment chacune un corps oléiforme brun, long de $40\ \mu$ et large de $35\ \mu$. Il est composé de globules plus ou moins déformés. Tout autour de lui se trouve le proto-

plasme aux chloroplastes plus ou moins décolorés (fig. 5, pl. IV).

2° *Marchantia polymorpha* L. Parmi les cellules du thalle, se trouvent des cellules polygonales longues de 80 μ et larges de 40 μ , qui renferment, au milieu de chloroplastes en bordure périphérique et plus ou moins altérés, un volumineux corps oléiforme brun, large de 27 μ et long de 60 μ . Sa masse est formée de petits globules de dimensions variables, très réfringents qui sont animés de mouvement. A côté du corps oléiforme, la cellule ne renferme pas de matières de réserve, pas d'amidon, tandis que les cellules voisines montrent des grains d'amidon et pas de corps oléiformes. Les cellules à corps oléiforme occupent une certaine superficie de thalle, une certaine densité que nous évaluons à 3 corps oléiformes aux 400 μ^2 (fig. 1, pl. V).

3° *Preissia commutata* Lindenb. Parmi les cellules du thalle, les cellules à corps oléiforme se présentent sous l'aspect de taches brunes nombreuses. Leur densité aux 400 μ^2 se compte par 4 cellules environ. Celles-ci mesurent en moyenne 47 μ de long sur 28 μ de large. Elles renferment un corps oléiforme arrondi de 42 μ de long sur 35 μ de large, où se distinguent des globules réfringents, immobiles et entassés, de couleur brune. Dans les cellules adultes, comme celles que nous décrivons, les chloroplastes sont rares ou très altérés et méconnaissables (fig. 2, pl. V).

4° *Fegatella conica* Corda, représente un thalle plus épais et plus différencié que les précédents. Les cellules à corps oléiformes diminuent de nombre, leur densité est de 2 au 400 μ^2 . Nous trouvons encore des cellules à corps oléiforme dans les épidermes (fig. 3, pl. V) et les assises à chlorophylle (fig. 4,

pl. V), mais se manifeste une tendance à localiser ces cellules spécifiques en des endroits déterminés. C'est vers le centre du thalle et surtout dans la nervure centrale qu'apparaissent les corps oléiformes bruns. Ceux-ci arrondis mesurent en moyenne $36\ \mu$ de diamètre et renferment des granules, animés de mouvement de trépidation. Logés dans les cellules pentagonales de $35\ \mu$ sur $50\ \mu$, les corps oléiformes sont entourés d'une faible couche de protoplasme où l'on distingue encore des chloroplastes verts (fig. 5, pl. V).

Conclusion: Voici le tableau récapitulatif des caractères extérieurs des cellules à corps oléiformes :

(Voir tableau ci-contre, page 21).

Tout au long de ces observations, nous avons remarqué la multiplication des corps oléiformes avec leur diminution de volume; ce sont deux phénomènes qui varient en raison inverse l'un de l'autre.

Les caractères de forme, de nombre, de grandeur, de situation intracellulaire, nous paraissent constants pour une même espèce. Leur accorder une place parmi les caractères secondaires de classification ne nous semble pas superflu. Dans le doute, au contraire, ces caractères constants et spécifiques permettraient souvent de décider un classement de plantes, surtout quand nous ne possédons pas les organes de reproduction; or ce dernier ennui est trop fréquent en notre région.

Outre ces avantages didactiques, les dessins de cellules à corps oléiforme avec leurs globules réfringents, dans la masse verte des chloroplastes ne sont point sans donner une impression esthétique.

Avec le Bitumi, l'ultra-microscope et les écrans de couleur, les aspects brillants et colorés des cellules enchantent la vue. Et dans la décoration des objets, ces images pourront peut-

NOMS DES HÉPATIQUES	DIMENSIONS des cellules à corps oléi- formes en μ .	CARACTÈRES DES CORPS OLÉIFORMES DANS UNE CELLULE						
		Nombre	Dimen- sions en μ .	Couleur	Mouve- ment	Forme	Présence	
Jungermaniales :								
Radula complanata DUM.	33/44	1	22/32	brune	oui	arrondie	Présence dans toutes les cellules	
Frullania dillatata DUM.	20/25	4 à 5	3/6	brun foncé	oui	arrondie ou ovale		
Scapania œguiloba DUM.	14/20	2 à 4	6 à 8	brun clair	oui	arrondie ou ovale		
Madotheca platyphylla DUM.	35/40	14 à 25	1 à 2/3	qqf. brun	o	ovale		
Plagiochila asplenioides DUM.	30/36	5	3 à 5 5 à 9	o	o	ovale et muriforme		
Lejeunea serpyllifolia LIB.	25/35	25	1/3	o	o	ovale		
Chiloscyphus polydu- thus var pallescens LINDENB.	45	5	4/10	brun clair	o	ovale		
Aplozia riparia DUM. . .	28/39	3	10/7	o	o	arrondie		
Lophocolex bidentata DUM.	22/34	3	3/6	o	o	ovale		
Lophocolea heterophylla DUM.	42/49	5	3/7	o	o	ovale		
Lopgocolea heterophylla var minor DOUIN. . . .	20/21	4 à 5	2/4	brun clair	oui	arrondie		
Lophozia Mulleri var Hornschuchiana MACOUN.	24/40	3 à 4	5/10	brun clair	oui	rectangu- laire ou ovale		
Pellia Fabroniana form. furcigera HOOK. . . .	40/50	12	3/6	brun clair	o	arrondie		
Metzgeria conjugata LINDB.	40	30	1/2	o	o	arrondie		
Aneura pinguis DUM. . .	40/50	7	4/5	o	o	arrondie		
Marchantiales :								
RICCIACÉES :								
Riccia glauca L. . . .	38/60	30	4 à 5	o	o	arrondie	Présence dans certaines cellules et densité des cellules à corps oléiformes aux 400 μ s.	
MARCHANTIACÉES :								
Lunularia cruciata DUM.	42/55	1	35/40	brune	o	arrondie	5	
Marchantia polymor- pha L.	40/80	1	27/60	brune	oui	ovale	3	
Preissia commutata LINDENB.	28/47	1	35/42	brune	o	arrondie	4	
Fagatella conica CORDA	35/50	1	36	brune	oui	arrondie	2	

être fournir quelques idées ingénieuses aux spécialistes de cet art.

Après avoir ainsi examiné les corps oléiformes, nous avons voulu vérifier les observations des auteurs touchant la constitution anatomo-histologique et physico-chimique de ces corps réfringents.

II. - CARACTÈRES INTIMES : STRUCTURE

Au point de vue anatomo-histologique, que sont les corps oléiformes?

HISTOIRE ET DÉFINITIONS

Soumis à l'examen attentif des botanistes, les corps oléiformes furent décrits différemment par les uns et par les autres.

HOLLE et GOTTSCHÉ, soumettant les corps oléiformes à divers réactifs, voient se produire la dissolution du contenu et demeurer une enveloppe qui a l'air d'une membrane. Ajoutant de l'alcool étendu (une partie d'alcool pour deux à trois d'eau) entre lame et lamelle où se trouve une feuille de *Radula complanata*, PFEFFER voit les gouttelettes qui constituent les corps oléiformes se réunir rapidement en une grande goutte, alors que reste une substance albuminoïde. PFEFFER recommande aussi pour mettre en évidence cette structure, de plasmolyser la cellule avec une solution de salpêtre à 20 %. Quant à la membrane du corps oléiforme, il la colore à l'aide d'une solution d'iode et de cochenille.

WAKKER épousant les idées de PFEFFER, admet la présence d'une enveloppe autour des corps oléiformes mais la définit comme étant de nature plasmique. D'où cette conclusion: les

corps oléiformes sont des élaïoplastes. WAKKER recommande pour la visibilité de cette préparation, l'alcool étendu, la solution aqueuse saturée d'acide picrique, qui produisent le phénomène de plasmolyse. Selon lui, le corps oléiforme posséderait un stroma protoplasmique, mis en évidence par une réaction protéique nette.

MEYER, HIERONYMUS, expriment la même idée en termes différents. La membrane est formée par du cytoplasme fixé, pour MEYER; une enveloppe protoplasmique entoure les corps oléiformes dans *Calypogeia trichomanis* d'après HIERONYMUS.

VON KUSTER admet l'existence d'un stroma de nature protéique, formation irrégulière où nagent les gouttes oléagineuses. Le corps oléiforme serait entouré d'une membrane de coagulation, produit artificiel.

D'après GARJEANNE, le stroma de VON KUSTER ne peut pas être siolé et fixé. La substance interstitielle des corps oléiformes donne une réaction protéique douteuse. Rejetant l'idée d'un stroma, il pense que la substance interstitielle des corps oléiformes est fluide, grasse et contient de l'albumine. Les corps oléiformes des *Jungermaniales* sont formés par des vacuoles. Ils possèdent une paroi propre autonome, « le tonoplaste primordial ». Leur enveloppe est un produit d'artifice et se compose vraisemblablement de tannate d'albumine.

RACIBORSKI veut identifier tonoplaste et élaïoplaste.

MOLISCH expose les diverses théories et ne conclut pas.

KOZLOWSKI considère les corps oléiformes comme les oléoplastes au sens d'agglutination de globules gras, naissant des chloroplastes.

HUSNOT, dans la dernière édition de son livre, parle « d'œlkörper ».

En somme, les opinions sont très partagées au sujet de la constitution histologique des corps oléiformes, les uns, avec PFEFFER, y reconnaissent une formation protoplasmique à membrane propre; les autres nient l'existence de cette membrane. Enfin, GARJEANNE, tout en rejetant l'idée de stroma, assimile le corps oléiforme à une vacuole, bordée par le tonoplasme.

Ces idées, basées sur des observations, manquent de netteté. Chacun étaye sa théorie sur des images et des réactions chimiques. Les images résultent souvent d'une interprétation personnelle; quant aux réactions chimiques, elles sont imprécises. Et GARJEANNE dans sa critique n'apporte pas de faits bien définis.

Nous avons repris ces diverses expériences, en nous aidant de toutes les ressources du laboratoire. Posant la question, comme si elle était neuve, nous avons tenté de la résoudre avec des moyens nouveaux. Nos observations portèrent surtout sur le *Radula complanata*. Ici les corps oléiformes sont volumineux et les différents auteurs, sauf PFEFFER, ne le citent jamais dans leurs expériences.. Ensuite nous avons vérifié sur d'autres espèces les résultats obtenus sur le *Radula complanata*. Au cours de cette étude, nous nous occuperons de rechercher :

1° *Si le corps oléiforme possède un stroma.*

2° *S'il possède une membrane.*

3° *S'il peut être considéré comme une vacuole.*

Dans ces trois paragraphes, nous procéderons :

1° A un examen sur le frais, avec ou sans coloration vitale.

2° A diverses réactions physiques et chimiques.

3° A un examen après fixation, avec ou sans coloration.

4° A un examen des préparations au Bitumi et à l'ultramicroscope.

I. - Stroma des corps oléiformes

Rappelons que certains auteurs admettent un stroma de nature protéique; que d'autres en nient l'existence pensant à une solution d'albumine.

EXPÉRIENCES

1° *Examen sur le frais.* — Prenons une feuille de *Radula complanata* et plaçons-la dans une goutte d'eau entre lame et lamelle. Nous voyons au centre de la cellule un gros corps oléiforme où dansent de nombreux petits globules brunâtres, très réfringents. Nous ne percevons aucun stroma, mais seulement des globules bruns, s'agitant dans une substance liquide.

2° *Examen après colorations vitales.* — Sous l'action des colorants vitaux: bleu de méthylène, bleu de Nil, bleu crésyl brillant, rouge neutre, soudan III, hélianthine, les globules prennent la coloration bleue avec les bleus et rouge avec les rouges. Les globules colorés se détachent avec netteté, toujours mobiles, sur un fond faiblement teinté. Grâce à l'action élective du colorant, nous voyons une dissociation précise; les globules se déplaçant dans une substance qui ne peut être que liquide par nécessité.

3° *Propriétés physiques.* — Des deux substances en présence, les globules et le liquide, faisons disparaître l'une ou l'autre ou bien les deux et cherchons un stroma.

Utilisons le phénomène de la plasmolyse. Plaçons une feuille de *Radula complanata* dans une solution de salpêtre à vingt pour cent ou plus simplement dans une goutte de glycé-

rine. Au microscope, nous observons le protoplasma séparé de la membrane cellulaire et le corps oléiforme diminué de volume. Celui-ci ne renferme plus que des globules serrés les uns contre les autres, immobiles ; le liquide a disparu.

Si nous reportons cette feuille dans l'eau ordinaire, nous voyons le corps oléiforme reprendre son volume primitif et les globules leur mouvement. C'est bien grâce à l'eau, seul élément nouveau apporté, que l'état normal se rétablit. Les globules se meuvent bien dans un liquide.

Pour faire disparaître les globules, renouvelons l'expérience de PFEFFER en plaçant une feuille de *Radula complanata* dans une goutte d'alcool étendu. La dissolution est lente. Avec l'alcool absolu, la dissolution est instantanée. Que reste-t-il après cette réaction ? Une cavité remplie par une substance translucide, où nous ne pouvons déceler aucun stroma.

Après l'action combinée de l'alcool et de la glycérine ou l'action prolongée de l'alcool absolu, nous ne trouvons plus trace ni de globules, ni de substance liquide : le corps oléiforme est réduit à une lacune dans le protoplasme fixé, qui le borde en se plissant.

4° *Propriétés chimiques.* — La présence d'un stroma protéique peut être décelée par l'emploi des réactifs des albuminoïdes qui fixent la substance protéique et donnent quelquefois une couleur caractéristique. Voici les résultats que nous avons obtenus.

Les matières colorantes en solution aqueuse se fixent sur les globules du corps oléiforme comme tous les colorants vitaux : la solution iodo-iodurée les teint en jaune ; la solution aqueuse faible d'éosine en rouge.

Le réactif de Milon ne donne pas de coloration rouge ; la réaction xanthoprotéique, pas de coloration jaune avec l'ammoniaque ; la réaction du biuret, pas de coloration violette ou rouge ; l'acide phospho-molybdique, pas de coloration jaune après une à deux heures ; le sulfate de nickel en solution concentrée dans l'ammoniaque, pas de coloration jaune ou bleue ; avec adjonction de potasse, pas de coloration nouvelle.

L'absence de réactions positives dans le corps oléiforme vis-à-vis de tous les indicateurs de substance albuminoïde, nous permet de rejeter l'opinion de la présence d'un stroma protéique ou d'une solution de matière albuminoïde.

5° *Action des fixateurs.* — Essayons de fixer le corps oléiforme et voyons les résultats obtenus. Nous avons renouvelé les procédés des différents auteurs qui étudièrent ce point de vue de microchimie et nous avons contrôlé ces résultats par l'emploi de fixateurs plus délicats.

Rejetons tout fixateur qui cause des troubles importants du protoplasme en formant diverses figures comme des réseaux artificiels. Prenons les seuls fixateurs qui préservent à peu près tout le contenu du cytoplasme.

I. — *Agents fixateurs seuls*

1° Acides minéraux : acide osmique.

2° Parmi les sels métalliques : le bichromate de potasse, le bichlorure de mercure.

3° Parmi les sels organiques : l'acide picrique en solution saturée.

4° Parmi les réducteurs organiques : l'alcool éthylique, la formaldéhyde à 40 %.

II. — *Divers mélanges fixateurs*

1° A base d'acide osmique : les mélanges de HERMANN, BENDA, ALTMANN, CHAMPY, LINDSAY-JOHNSON.

2° A base de chrome : le mélange bichromaté de Von TELLYESNICZKY ; le mélange d'ORTH (ou Müller-formol).

3° A base de sublimé corrosif : le mélange de ZENKER non acétifié.

4° A base d'acide picrique : le picroformol de BOUIN, le picroformol de BOUIN-HOLLANDE, le DUBOSCQ-BRASIL, le mélange de MANN.

5° A base de formol : l'alcool-formol, le mélange de REGAUD.

6° A base d'alcool : l'alcool à 95°.

Après ces divers fixateurs, jamais nous n'avons pu relever la présence d'un stroma albumineux constituant la trame du corps oléiforme.

6° *Action des fixateurs et colorants.* — La finesse de texture du stroma, ou de la substance albuminoïde pouvait peut-être passer inaperçue. Pour éviter cette critique, nous avons procédé à diverses colorations pour tenter de mettre en évidence quelque réticulum du corps oléiforme. Après les fixateurs précédents, nous avons été obligé d'utiliser des colorants régressifs, très puissants. Nous avons employé l'hématoxyline ferrique, la méthode de REGAUD, la méthode d'ALTMANN à la fuschine acide et à l'acide picrique, la méthode de BENDA à l'alizarine et au cristal-violet, la méthode de KULL-CHAMPY.

Quelle que soit la méthode de coloration utilisée, aucun résidu albumineux ne demeurerait à l'intérieur du corps oléiforme,

vidé, après l'action des différents produits qui agissent dans une fixation. Répétant nos expériences sur les autres Hépatiques à feuilles et à thalle, nous aboutissons aux mêmes conclusions.

7° *Observations au Bitumi et à l'ultra-microscope.* — Examinées à l'aide du Bitumi, les corps oléiformes ne semblent pas posséder de stroma. Chez *Radula complanata*, nous voyons les globules réfringents gros et petits se mouvoir dans une substance liquide.

C'est à la même conclusion que nous aboutissons après l'emploi de l'ultra-microscope. Les globules paraissent très réfringents et nous n'avons pas vu de réseau ou de substratum albumineux dans le corps oléiforme.

8° *Résumé.* — En résumé, au cours de ces nombreuses observations sur les corps oléiformes, de stroma, de substance albumineuse en solution, nous n'en avons pas vu, ni pu mettre en évidence. Tels sont les faits que nous avons enregistrés scrupuleusement.

DISCUSSION DES THÉORIES

Comment expliquer les opinions avancées par certains naturalistes? Après PFEFFER, certains observateurs, recueillant les idées du Maître les adoptèrent: le corps oléiforme est constitué par un stroma de nature protéique. Et pour établir cette affirmation, quelles preuves apportent-ils? Ils affirment les réactions des matières protéiques. A une époque plus récente, en 1903, GARJEANNE reprit les expériences de l'école de PFEFFER, et trouva que la substance interstitielle des corps oléiformes donnait une réaction protéique « douteuse »; aussi,

dit-il, l'idée d'un stroma n'est pas juste. Nous n'avons même pas relevé cette vague impression de matière protéique.

« Je pense, ajoute GARJEANNE, que la substance interstitielle de l'œlkörper est fluide, grasse et contient de l'albumine. »

Vraiment nous ne concevons pas une telle affirmation, après la constatation par l'auteur, d'une réaction protéique « douteuse ».

Dans les pages précédentes, nous avons repris les expériences des auteurs. A aucun moment, nous n'avons pu mettre en évidence l'existence d'une substance protéique dans le corps oléiforme.

Après cette constatation doit disparaître l'appellation d'oléoplaste et d'élaïoplaste, employée dans le sens précisé par WAKKER. Par définition, le corps oléiforme ne peut plus être ainsi dénommé. Et alors s'écroule toute la théorie qui attribuait, par pure hypothèse, une origine et une nature de plaste aux corps oléiformes. Déjà KOZŁOWSKI, parlant d'oléoplaste, n'envisage plus la constitution plastique car il définit l' « œlkörper » : un assemblage de globules graisseux.

CONCLUSIONS

Comment, dira-t-on, des hommes prévenus ont-ils pu avancer de telles affirmations? Nous pensons que leurs moyens d'observation n'étaient pas très perfectionnés: ils ne possédaient point de puissants instruments d'optique. Les réactions microchimiques n'assuraient pas la nature de la matière, d'une façon aussi précise qu'à l'heure actuelle. Ils ne possédaient pas nos méthodes et facilités de travail, la longue expérience

des ans au point de vue des fixateurs et des colorants. Et dans toutes ces opérations microchimiques, la réussite et l'appréciation du résultat sont choses délicates.

Donc pas de stroma, pas de substance albuminoïde constituant le corps oléiforme.

II. - Membrane

Autour du corps oléiforme, le séparant du protoplasme environnant, existe-t-il une membrane? A ce propos les avis se partagèrent aussi et furent nombreux. Résumons les théorèmes selon deux points de vue.

1° *Existence d'une membrane spécifique.* — Les premiers observateurs, HOLLE et GOTTSCHÉ, lui donnèrent le nom de membrane, sans autres raisons ou indications de nature. PFEFFER lui reconnaissait une nature albuminoïde spémiale. Tout en admettant la présence d'une membrane protéique, WAKKER, MEYER, HIERONYMUS la définirent comme d'origine plasmatique et Von KUSTER comme un produit artificiel résultant d'un phénomène de coagulation.

2° *Pas de membrane spécifique.* — Le corps oléiforme, selon GARJEANNE, serait entouré d'une enveloppe protoplasmique, membrane vivante autonome: le tonoplaste. La membrane qui apparaît à l'examen des préparations microscopiques résulterait d'un précipité de tannate d'albumine.

EXPÉRIENCES

Instituons diverses expériences sur le vivant et sur les cellules fixées, pour mettre en relief la réalité de cette membrane.

1° *Examen sur le frais.* — Une feuille de *Radula complanata*, posée dans une goutte d'eau entre lame et lamelle, est observée au microscope. De suite l'image du corps oléiforme nous apparaît bordée par une ligne brunâtre. Cette ligne nous paraît circulaire, si nous mettons au point sur le centre du corps oléiforme. Avec mise au point sur sa partie inférieure, nous apercevons une masse brunâtre, floue, présentant trois zones concentriques : une extérieure claire, une moyenne foncée et une centrale brune. Mettons au point sur le centre du corps oléiforme, nous voyons ce dernier limité par un anneau, noir, étroit, très net, strié de cercles de diffraction. Le reste apparaît en brun clair. Enfin, mettant au point sur la partie supérieure, nous voyons l'anneau noir s'élargir, devenir flou, et brun à la périphérie, tandis qu'au centre apparaît un cercle très brillant à limites nettes. Ces apparences sont homologues de celle du globule de graisse, ou du baume de Canada, ou l'essence dans l'eau. Ce sont des phénomènes de réfraction et de diffraction qui peuvent tromper l'observateur et lui montrer une membrane de structure véritable.

2° *Propriétés physiques.* — Outre ces propriétés optiques, cette ligne présente une réfringence plus marquée que le reste de la cellule. Son épaisseur varie avec l'éclairage et la mise au point. Ce phénomène nous rappelle celui de la bulle d'air dans une préparation.

Sous l'influence d'une solution de densité différente, cette ligne diminue de surface ou augmente. Pour la faire varier dans des limites étendues, nous pouvons dissoudre les globules sur lesquels se moule cette ligne avec l'alcool absolu par exemple. Celui-ci amène la disparition de la substance liquide interstitielle (PFEFFER employait de l'alcool étendu, mais nous n'avons pas obtenu, avec ce mélange, des résul-

tats complets). Nous voyons alors le corps oléiforme, réduit à un volume très petit, fixé à ce stade par l'action de l'alcool sur le cytoplasme. Même résultat, avec la solution d'acide picrique utilisée par WAKKER. L'action de substances plasmolysantes comme les solutions salines plus ou moins concentrées et les phénomènes de turgescence, montrent les variations faciles et progressives de cette limite du corps oléiforme. Ces variations de formes sont comparables à celles du protoplasme cellulaire sous l'influence des variations moléculaires du milieu. Nous voyons ici un phénomène homologue de celui liant les surfaces de liquides, de concentration différente, c'est la bulle d'air, l'essence, la graisse dans l'eau ou un autre liquide de concentration moléculaire différente. La limite, la ligne, la membrane de PFEFFER, c'est le résultat de la tension superficielle, dont les variations sont conditionnées par celles du milieu.

3° *Examen après colorations vitales.* — Toute coloration vitale du corps oléiforme, colore aussi la limite qui le sépare du protoplasme. Cette ligne emprunte sa couleur soit au corps oléiforme, soit au cytoplasme quand un seul est coloré, soit aux deux si tous les deux sont colorés.

Sous l'action du soudan III, elle est couleur brique; sous le bleu de cyanine, elle est bleue; sous le bleu de méthylène ou de toluidine, elle est bleue. Nous notons le même fait avec les solutions d'iode et de cochenille, employées par PFEFFER. Selon l'éclairage et la mise au point, la ligne apparaît plus ou moins épaisse réfringente et sombre, développant les illusions d'optique de la réfraction et de la diffraction, avec les couleurs en plus. A l'analyse de l'observation, nous n'avons pas remarqué de membrane colorée spécifiquement comme la membrane cellulaire par exemple, ou comme la membrane

mince des Protozoaires. Les colorants vîtaux ne permettent pas de déceler l'existence d'une membrane.

4° *Propriétés chimiques.* — Quelques réactions chimiques nous permettront-elles de voir une membrane?

Les acides et les alcalis, selon PFEFFER, ne dissolvent pas cette membrane. Nous n'avons point observé ce phénomène. Acides et alcalis forts dissolvent la cellule et mettent en liberté les globules qui dansaient dans le corps oléiforme.

Toute réaction protéique se produit autant sur le cytoplasme que sur le pourtour du corps oléiforme. Mais, en raison des phénomènes d'optique de réfraction et de diffraction, le cytoplasme coloré donne une couleur à la limite du corps oléiforme et fournit l'illusion d'une membrane.

5° *Action des fixateurs.* — Un fixateur nous décèlera-t-il l'existence de cette membrane de PFEFFER, ou seulement de ce cytoplasme de MEYER ou de la membrane de tannate d'albumine de GARJEANNE? L'emploi des fixateurs cytoplasmiques ordinaires: BOUIN, DUBOSCQ-BRASIL et les plus différents: FLEMMING sans acide acétique, ALTMANN, CHAMPY, le formol, le mélange de MULLER ne nous apportèrent aucune preuve capable d'entraîner notre conviction. Le contour du corps oléiforme vide apparaît comme une fine ligne, semblable à celle qui délimite une lacune dans le cytoplasme.

6° *Action des fixateurs et des colorants.* — Un colorant électif nous montrera peut-être cette membrane? En vain l'hématoxyline, la fuchsine, le bleu de méthylène, le bleu polychrome, ne permirent aucune constatation de la présence d'une enveloppe.

7° *Observations au Bitumi et à l'ultra-microscope.* — A l'aide de ces deux instruments d'optique, nous ne percevons

aucune membrane. Là où finit le protoplasme se trouvent les globules du corps oléiforme.

8° *Résumé.* — De toutes ces expériences, ressort l'idée qu'une membrane spéciale, entourant le corps oléiforme, n'existe pas.

DISCUSSION DES THÉORIES

L'opinion des auteurs apparaît en contradiction avec les faits que nous apportons. Et cependant nous avons renouvelé les expériences des anciens observateurs. D'où vient cette contradiction? Ont-il été les jouets d'illusions d'optique? C'est possible. Utilisant des instruments de précision beaucoup moins perfectionnés que les nôtres, peut-être n'ont-ils pas pu discerner nettement le phénomène de diffraction. Quant à KOSŁOWSKI, parlant d'oléoplaste (agglutination de globules graisseux), il ne signale pas de membrane.

CONCLUSIONS

Ainsi l'observation d'une cellule de *Radula complanata* ne nous fait voir aucune membrane entourant le corps oléiforme, sinon une pellicule plasmique résultant du contact du cytoplasme avec une substance à poids moléculaire autre, à tension superficielle différente. C'est une limite, c'est une ligne due à la différence de tension des deux substances: d'un côté le corps oléiforme proprement dit et de l'autre le cytoplasme simple, vivant.

III. - Vacuole

Pas de stroma protéique, pas de membrane, le corps oléiforme apparaît donc comme une inclusion dans le protoplasme. C'est une vacuole entourée d'une membrane, autonome, vivante, le tonopase, dit GARJEANNE. C'est un oléoplaste, dit KOSLOWSKI. Oléoplaste dont la constitution s'est faite par adjonction de globules graisseux sans jamais avoir été un plaste.

DISCUSSION DES THÉORIES

Mais nous avons observé que le corps oléiforme du *Radula complanata* était constitué par des globules réfringents qui s'agitaient dans une substance liquide. Cette conception heurte les idées classiques bien établies au sujet des oléoplastes. Ceux-ci sont, par définition, des masses inertes, des inclusions immobiles. Assimiler le corps oléiforme à un oléoplaste, c'est renouveler l'erreur de WÄKKER, en la corrigeant légèrement.

L'expression de GARJEANNE: « Vacuole entourée de tonoplaste », « membrane autonome », quelquefois formée d'un tannate d'albumine, ne répond pas tout à fait à la réalité. De toutes manières, nous avons recherché ce protoplasme différencié ou cette membrane de tannate d'albumine et nous ne l'avons pas vu. Autour des corps oléiformes, nous voyons le protoplasme cellulaire sans caractères optiques spéciaux.

De l'opinion de GARJEANNE, nous ne retiendrons que l'affirmation qu'il pose dans le résumé de son article: « les corps oléiformes des Jungermaniées sont formés par des vacuoles ».

Toutes nos expériences précédentes corroborent cette affirmation. En effet, nous avons démontré:

1° Que le stroma protéique de WAKKER ou la substance protéique de GARJEANNE n'existe pas.

2° Que la membrane n'est qu'une portion de cytoplasme modifiée dans sa tension.

3° Que le corps oléiforme après l'action des fixateurs et colorants restait comme une lacune dans le protoplasme, limité par ce tonoplaste.

En outre, nous avons observé au Bitumi et à l'ultra-microscope des cellules des feuilles de *Radula complanata* et de *Plagiochila asplenoides* et nous avons fait les constatations suivantes :

1° Au Bitumi, dans les cellules du *Radula complanata*, nous voyons un corps oléiforme volumineux. Dès l'arrivée de l'eau au contact des cellules, nous portons notre attention sur la limite du corps oléiforme. Nous la voyons formée par le protoplasme qui se distend progressivement sous la poussée de l'eau qui pénètre à l'intérieur du corps oléiforme. Puis, celui-ci, ayant atteint un certain volume, ses limites ne changent plus et ses globules continuent à s'agiter.

Chez *Plagiochila asplenoides*, nous observons des faits semblables dans les corps oléiformes. Ceux-ci ont une taille beaucoup plus petite que celle des corps du *Radula complanata*. Aussi l'observation en est rendue plus difficile. Mais la disposition marginale des corps oléiformes dans le protoplasme abondant, nous révèle un phénomène intéressant. Nous voyons les corps oléiformes se gonfler d'une façon progressive et présenter deux sortes de mouvement :

1) Un léger mouvement de balancier autour d'un axe cellulaire perpendiculaire au champ du microscope et 2) un mouvement très lent de translation dans la cellule. Que la plasmolyse commence, tous ces phénomènes de vie s'arrêtent.

2° A l'ultra-microscope, les globules réfringents apparaissent avec un grand éclat lumineux. Les corps oléiformes du *Radula complanata* et du *Plagiochita asplenoides* se présentent sous l'aspect de vraies vacuoles.

Etendant nos observations aux autres familles des Hépatiques, nous avons pu établir la généralité de ces observations. Sans stroma, sans membrane, le corps oléiforme, l'« œlkörper » des traités classiques, apparaît comme homologue des autres vacuoles. Au point de vue morphologique et histologique, il n'existe aucune différence entre un corps oléiforme et les autres vacuoles : tous deux possèdent les mêmes caractères et les mêmes propriétés. Seul le contenu diffère.

C'est ce contenu que nous allons étudier dans le chapitre suivant.

CHAPITRE II

NATURE DES CORPS OLÉIFORMES

Les premiers auteurs qui s'occupèrent de cette question considérèrent ces formations intracellulaires comme des substances de natures très diverses.

MIRBEL vit, le premier, en 1835, les cellules remplies de petites bulles dont la composition serait celle d'une substance salée ou de l'amidon.

A la suite de quelques essais sur la solubilité de ces bulles GOTTSCHÉ, en 1843, affirma leur solubilité dans l'alcool et leur nature de résine ou de cire.

En 1856, voyant la faible coloration jaune de ces bulles, sous l'influence de l'iode, SCHLACHT conclua qu'elles étaient formées par de l'inuline.

HOLLE, en 1857, écrivit que ces bulles représentaient une résine et une huile éthérée. Il se basa sur ces deux faits :
1° ces bulles n'étaient pas saponifiables par la potasse ;
2° DELFFS avait réussi à obtenir un produit de distillation.

LINDBERG combattit ce point de vue dans une note publiée en 1862.

HOFMEISTER, en 1867, écrivit que ces bulles étaient formées par de la résine.

PFEFFER étudia ces formations chez *Alicularia*, *Radula*

complanata, *Plagiochila asplenioides*, *Mastigobryum trilobatum*. Et, en 1874, il formula son point de vue, en les dénommant « œlkörper ». Ce nom devait faire fortune, probablement à cause de la notoriété du savant qui avait baptisé ces bulles et de la magie des mots qui apportent une satisfaction à l'esprit qui n'aime point se reposer sur des concepts vagues. Voici en résumé ce qu'écrivait PFEFFER. Ces bulles sont constituées par de la graisse: ce sont des corps oléiformes (œlkörper). Ceux-ci ne sont pas miscibles à l'eau, mais peuvent former des émulsions plus ou moins fines. Si l'on assèche la cellule en la mettant dans un milieu de glycérine ou dans une solution sucrée, sous l'action de l'alcool ou de l'eau chaude, le corps oléiforme change de volume et en même temps de forme. Transportant cette cellule dans l'eau pure, le corps oléiforme retourne à son état primitif. Même chez les vieilles cellules, PFEFFER retrouvait des corps oléiformes. Pour expliquer ces divers phénomènes, PFEFFER admettait que le corps oléiforme disparaissait en partie dans la membrane.

Après l'analyse, PFEFFER reconnut les propriétés suivantes aux corps oléiformes:

Ni la cuisson prolongée dans l'eau, ni un chauffage à 100° C. ne font disparaître les corps oléiformes.

Ceux-ci sont solubles dans l'éther de pétrole, l'éther, l'acétone, le chloroforme, le benzol, le sulfure de carbone, l'huile d'œillette, l'alcool fort mais aussi l'alcool étendu (encore à 40 %), l'acide acétique, l'hydrate de chloral.

La lessive de potasse et les acides ne les solubilisent pas.

Sous l'influence de l'acide osmique, de la teinture d'alkanna et de différents autres colorants, les corps oléiformes se colorent faiblement.

Se basant sur ces diverses réactions chimiques, PFEFFER

concluait à la nature grasseuse des corps oléiformes et il pensait que les essences trouvées éventuellement chez les Hépatiques ne se trouvaient pas forcément dans les corps oléiformes.

Il n'éloigna pas la possibilité de présence de résine, qui, selon lui, serait solubilisée dans « l'huile grasse fluide ».

De plus, chez les *Marchantiacées*: *Lunularia* et autres espèces, il observa qu'une solution de sulfate de fer produisait une coloration bleu-noir, disparaissant par l'adjonction d'acide chlorhydrique. Dans les mêmes conditions, une solution de bichromate de potassium montrait une masse rouge-brun. Ces deux caractères lui permirent d'affirmer la présence de tannin dans la masse environnant le contenu du corps oléiforme.

A l'observation prolongée, PFEFFER remarqua la différence de réaction des Hépatiques aux réactifs, tant au point de vue de la quantité que de la qualité des corps oléiformes.

Après le Maître, les élèves répétèrent les mêmes affirmations et consacrèrent l'appellation de corps oléiformes (*œlkörper*).

Cependant, LIMPRICHT, en 1876, reconnaissait aux corps oléiformes une nature de résine. C'est à celle-ci qu'il attribuait l'odeur particulière des Hépatiques.

WAKKER, en 1888, étudia au point de vue microchimique la nature des corps oléiformes et arriva aux mêmes conclusions que PFEFFER, mais, préjugant de leur origine, les considéra comme des élaïoplastes. Cependant, en 1892, WAKKER écrivait que la nature, les propriétés et la signification des corps oléiformes n'étaient pas tirées au clair. Un doute se levait dans son esprit.

Von KUSTER, en disciple fidèle, soutint, en 1894, les assertions du Maître. Il nia l'existence de résine, car l'essai de la

réaction d'UNVERDORBEN-FRANCHIMONT lui donna un résultat négatif. A son tour, il apporta son hypothèse du stroma protéique où serait incluse l'huile.

Malgré les faits apportés par PFEFFER et son école, quelques auteurs étudièrent les corps oléiformes. De nouveau reparurent les idées anciennes.

GOEBEL, en 1898, reprit l'idée de la composition résineuse, à laquelle il attribua l'odeur des Hépatiques.

LOHMANN critiqua les idées de PFEFFER et s'éleva contre ses affirmations invraisemblables, telle que celle de la non-volatilité des corps oléiformes. Dans un travail, paru en 1903, il analysa plusieurs Hépatiques et conclut que les corps oléiformes étaient constitués par des huiles éthérées.

La même année, GARJEANNE écrivit que les corps oléiformes se composaient d'une substance non volatile, bien qu'elle présentât toutes les autres réactions des essences.

Reprenant les idées de LOHMANN, MULLER, en 1912, combattit l'opinion de PFEFFER. Il affirma la présence dans les corps oléiformes d'huiles éthérées volatiles, représentant un mélange de terpènes et de terpènes-alcools ou sesquiterpènes et sesquiterpènes-alcools. Ces essences posséderaient un volume qui ne correspondrait pas à l'intensité du parfum dégagé par la plante.

A. CASARES-GIL, en 1919, publia la *Flora Iberica*, où il décrit ces corps réfringents des Hépatiques. Il les appella « cuerpos aceitosos » et les considéra comme des corps gras. Toutefois, cet auteur remarqua les nombreuses opinions émisées au sujet de leur composition et leur nature chimique ne lui parut pas nettement définie.

Dans son livre de microchimie des plantes de 1921, Mo-

LISCH exposa sans conclure toutes ces théories contradictoires.

KOZLOWSKI, en 1921, nous parla des oléoplastes des Hépatiques, constitués par l'agglomération de petits corpuscules graisseux.

Enfin, tous les traités classiques de Botanique répètent, depuis PFEFFER, que les corps oléiformes sont des corps oléagineux.

Voilà toute une quantité d'affirmations contraires. Nous pouvons cependant dégager deux théories importantes, basées sur quelques faits : 1° la théorie du « corps oléiforme - corps gras », et 2° la théorie du « corps oléiforme - essence ». A côté de ces deux écoles, quelques auteurs épars attribuent aux corps oléiformes des constitutions plus ou moins hétéroclites : résine, cire, amidon, sel, inuline.

2° ESPÈCES ÉTUDIÉES

Il nous paraît intéressant de rechercher la vraie nature des corps oléiformes en utilisant les moyens scientifiques dont nous disposons : moyens d'observation et réactions chimiques plus développées qu'au temps de PFEFFER.

Comme matériel d'observation, nous prendrons tout d'abord, le *Radula complanata* que nous étudierons en détail. Pour contrôler nos résultats, nous étendrons le champ de notre examen et nous porterons notre attention sur les diverses autres hépatiques étrangères à notre région. Enfin, nous discuterons et résumerons nos résultats.

I. — ETUDE DU *RADULA COMPLANATA* Dum.

Cette Hépatique forme des gazonnements verts foncés, appliqués sur l'écorce des arbres, surtout des Hêtres. Elle est constituée par une tige et des feuilles. La tige est complètement couchée, très rameuse, longue de 15 à 40 millimètres. Les feuilles convexes sont imbriquées et divisées en deux lobes, très inégaux; le lobe supérieur surborbulaire est entier; le lobe inférieur rectangulaire, replié vers le lobe supérieur est quatre fois plus petit et porte quelquefois un paquet de radicelles. Cette plante est une espèce monoïque paroïque. Elle ne possède pas d'amphigastres. Son périanthe vert, campanulé, entier, laisse passer un pédicelle plus long que lui. Elle présente une capsule divisée jusqu'à la base en quatre valves et une coiffe libre.

C'est une espèce qui se prête bien à l'observation, à cause de la présence, dans chacune de ses cellules, d'un corps oléiforme volumineux. C'est elle aussi qu'étudia PFEFFER; ce qui nous permettra de vérifier une des bases de la théorie de ce savant.

ETUDE MICROSCOPIQUE DES CORPS OLÉIFORMES AU POINT
DE VUE PHYSICO-CHIMIQUE

1° *Propriétés physiques.* — Quelques feuilles de *Radula complanata*, montées dans l'eau ordinaire, à la température du laboratoire (18°), nous montrent, à l'intérieur de leurs cellules, les corps oléiformes: ils sont formés de globules plus ou moins volumineux, se mouvant dans un liquide plus ou moins coloré en brun.

Cette distinction entre les globules et le liquide vacuolaire

n'a pas été faite d'une façon précise par les auteurs. Si quelques-uns la signalaient, c'était plutôt par raisonnement déductif que par des faits péremptoires.

A. — LIQUIDE VACUOLAIRE

La présence de ce liquide vacuolaire brun fut soupçonnée par PFEFFER. Voyant les globules réfringents s'agiter d'un mouvement moléculaire, il en déduisit la présence d'une substance inter-globulaire liquide.

a) *Expériences de diffusion des solutions.* — Si nous laissons au contact de l'eau quelques tiges de *Radula complanata*, nous voyons, après vingt-quatre heures, les deux faits suivants :

1° L'eau est colorée en brun.

2° Le liquide des vacuoles est moins coloré et même presque incolore en certaines cellules.

L'eau colorée en brun indique une diffusion de la substance de la vacuole vers l'extérieur. Cette diffusion se réduit, dans les solutions salées de concentration de plus en plus forte, pour disparaître complètement.

Voici l'expérience que nous avons faite. Nous avons placé des feuilles de *Radula complanata* dans les divers tubes suivants :

Tubes	Eau distillée	NaCl	Coloration de la solution
—	—	—	—
1°	100 cc.	0 gr.	brune
2°	—	0 gr. 5	moins brune
3°	—	1 gr.	beaucoup moins brune
4°	—	1 gr. 5	aucune coloration
5°	—	2 gr.	—
6°	—	2 gr. 5	—
7°	—	3 gr.	—

Dès le tube n° 4, pour une concentration de 1 gr. 5 pour cent, la diffusion n'existe plus.

La présence de cellules dont les vacuoles sont devenues claires, montre le passage inverse de l'eau dans la vacuole.

Ce mouvement de l'eau vers l'intérieur se manifeste avec force quand, après avoir plasmolysé quelques secondes les cellules, on les remet dans l'eau. On assiste au gonflement progressif de la vacuole jusqu'à son volume précédent.

Quand nous remplaçons l'eau par une solution saline, le passage de l'eau se produit de moins en moins avec l'augmentation de la concentration de la solution, pour ne plus se produire avec une solution au taux de 1,5 %, dans le tube n° 4 de l'expérience précédente.

D'autres liquides agissent à l'instar de l'eau, mais avec plus de rapidité. Ce sont l'alcool, l'éther, corps qui diffusent très vite dans la vacuole et la déshydrate.

Ce liquide brun est donc soluble à la température ordinaire dans l'eau, peu soluble dans l'alcool, insoluble dans l'éther et le chloroforme. La membrane cellulaire et le protoplasme, se comportent vis-à-vis du liquide vacuolaire comme une membrane perméable à ces divers solvants. Les relations qui lient l'eau et le liquide vacuolaire sont commandées par les lois physiques de la pression osmotique: le liquide vacuolaire diffuse dans l'eau jusqu'à ce que l'équilibre moléculaire soit réalisé. Un phénomène semblable se produit avec les solutions salines: l'équilibre se produit au tube n° 4 et le phénomène inverse des premiers tubes commence au tube n° 5 et se continue dans les suivants.

b) *Etude de la coloration brune.* — La coloration brune du liquide vacuolaire apparaît très nette quand les cellules sont examinées dans une goutte d'eau ordinaire.

Spectre. — Cette couleur correspond à un spectre spécial que nous avons déterminé en utilisant le spectro-microscope. Nous avons procédé de la façon suivante : un microscope est placé devant une lampe à arc ; nous montons une préparation sur la platine, et, devant l'oculaire, nous plaçons le spectroscope. Nous avons choisi une feuille de *Radula complanata*, où les cellules sont grandes ; les chloroplastes, espacés et la vacuole centrale grosse, remplie d'un liquide très brun. De cette façon, les chloroplastes apparaissent très pâles et ne fournissent aucun spectre de la chlorophylle. Les membranes cellulaires sont transparentes, le protoplasme est translucide. Dans ces conditions, nous avons obtenu le spectre suivant : (voir fig. 1, pl. VI).

Les bandes correspondantes à l'orangé sont un peu obscurcies. Depuis la bande du sodium (D) l'obscurcissement des couleurs augmente. À la bande b, l'obscurité apparaît totale : on ne voit pas trace de bleu, de violet et de toutes les radiations suivantes.

Comparons ce spectre avec celui de la chlorophylle des feuilles aux chloroplastes nombreux. Celui-ci présente l'image suivante : (voir fig. 2, pl. VI).

La bande située dans le rouge et comprise entre B et C, large, noir foncé, nettement limitée, que l'on considère comme la principale bande d'absorption n'existe pas dans le spectre du liquide brun. Aucune des bandes nettes de la chlorophylle entre C et E ; mais seulement une lumière affaiblie quand il s'agit du liquide vacuolaire. Enfin, c'est une bande estompée qui apparaît à partir de la raie F dans le spectre chlorophyllien ; alors que, dans le spectre du liquide brun, une bande noire commence à la raie b.

Le spectre obtenu avec les feuilles de *Radula complanata*

n'est donc point le spectre chlorophyllien : il se compose de bandes d'absorption différentes et non superposables à celles de la chlorophylle.

A l'aide de l'ultra-microscope et de divers écrans colorés nous avons recherché les phénomènes de fluorescence des corps oléiformes.

L'interposition d'un écran de WOOD sur le trajet lumineux d'une lampe électrique, produit la fluorescence rouge clair du liquide vacuolaire et rouge sombre des globules réfringents. Le corps oléiforme est rendu visible grâce aux radiations ultra-violettes qui sont précisément celles qui se trouvent dans la zone d'absorption de son spectre.

c) *Variations avec les phénomènes de plasmolyse et de turgescence.* — Le liquide vacuolaire disparaît à la vue, si nous chassons l'eau de la préparation et la remplaçons par de la glycérine. Au microscope, nous ne voyons plus qu'une cellule, contenant des chloroplastes pâles et une vacuole centrale plus ou moins visible et contractée. Cette cellule, replacée dans l'eau ordinaire, nous montre, à nouveau, un liquide vacuolaire brun, occupant une vacuole plus volumineuse.

Des phénomènes semblables se produisent lorsque nous examinons une feuille de *Radula complanata*, placée dans une solution saline concentrée puis dans l'eau ordinaire : la coloration brune disparue, reparait. Nous pouvons observer la disparition progressive de cette couleur, en utilisant une série de tubes à solution saline de concentration croissante.

Tubes	Eau distillée	Chlorur. de sodium	Liquide vacuolaire
1 ^o	100 cc.	0 gr.	coloration brune
2 ^o	—	5 gr.	coloration moins brune
3 ^o	—	10 gr.	coloration beaucoup moins brune
4 ^o	—	15 gr.	incolore
5 ^o	—	20 gr.	incolore

Nous voyons que les cellules des feuilles de *Radula complanata*, plongées, durant quelques minutes, dans ces diverses solutions et montées dans ces mêmes liquides, présentent un liquide vacuolaire de moins en moins coloré puis incolore au tube n° 4, lorsque la solution est à 15 %. C'est-à-dire plus justement qu'à cet instant, nous ne percevons plus de liquide vacuolaire coloré. Cependant la transposition de ces feuilles dans l'eau ordinaire permet de constater la réapparition du liquide brun vacuolaire.

Que se passe-t-il dans ces diverses expériences? Les propriétés osmotiques de la cellule se trouvent modifiées par des causes externes et internes: les variations moléculaires de la dissolution externe et du contenu vacuolaire. Alors le corps protoplasmique se contracte pour rétablir l'équilibre osmotique. D'où, les modifications du liquide brun et du volume vacuolaire. Tous ces phénomènes répondent à la définition du phénomène physique de la plasmolyse.

La disparition brusque de la coloration brune eut pu nous faire songer un instant à un autre phénomène physique: celui des filtres absorbants. Mais nous avons éliminé cette hypothèse parce que d'une part, toute substance qui ne mouille pas l'Hépatique ne donne point cette décoloration malgré un indice de réfraction analogue à celui des substances employées, d'autre part, les faits de plasmolyse cellulaire existent d'une façon patente et suffisent à expliquer le phénomène.

En plasmolysant la cellule, l'eau contenue dans la vacuole transsude à travers le protoplasme et la membrane vers l'extérieur. Dans l'espèce *Radula complanata*, le liquide vacuolaire n'est point de l'eau seule, c'est une solution d'une substance brune. Que devient cette substance? Lorsque nous plasmolysons d'une façon énergique la cellule, nous voyons, à

la périphérie de la vacuole et surtout à la face interne de la membrane, une bande colorée en brun. Cette bande n'existe pas toujours très nette. Dans le liquide où est montée cette cellule, ne passe aucune matière brune. Etant donné ces deux remarques, nous pensons que la substance, en solution, sort de la vacuole, et, en esquissant un mouvement vers l'extérieur, se répand dans le protoplasme où elle est retenue en dissolution ou en adsorption, et, en tous cas, rencontre dans la membrane une barrière infranchissable. Que nous remplaçons la substance plasmolysante par de l'eau, nous voyons la face interne de la membrane et la circonférence de la vacuole se décolorer, puis le liquide vacuolaire progressivement reparaître, se colorant de nouveau en brun, à mesure que le cercle brun de la vacuole disparaît. Ces variations du liquide coloré ne sont qu'un cas particulier des phénomènes d'osmose. Selon la concentration cellulaire des corps dissous, le liquide brun passe ou ne passe pas à travers la membrane. C'est un fait analogue au phénomène d'hémolyse ou non hémolyse des globules rouges dans une solution de chlorure de sodium hypo ou isotonique.

d) *Action de la température.* — Tous ces phénomènes, nous les avons observés à la température ordinaire du laboratoire (18°). Modifions cette température en l'élevant ou en l'abaissant et voyons ce qui se passe.

Des feuilles de *Radula complanata* sont placées entre lame et lamelle dans une goutte d'eau distillée. Nous portons cette préparation au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen. A peine la flamme a-t-elle léché la lame, durant quelques secondes, que nous voyons l'eau se teinter en brun. Cette coloration va en augmentant à mesure que l'eau s'échauffe. Mises dans une solution salée, les cellules du *Radula complanata* abandonnent

moins facilement leur liquide vacuolaire; avec une solution sursaturée de chlorure de sodium, c'est à l'ébullition seulement que la solution prend une coloration brune. En même temps, nous suivons au microscope cette diffusion du liquide vacuolaire: cet exode se produit par exosmose au début, puis les cellules éclatent en leur pôle, dilaté et fragile, là où bombe la vacuole. Alors le liquide vacuolaire se répand dans le liquide environnant.

Le liquide vacuolaire diffuse facilement sous une température élevée. Que devient-il sous une température basse?

A zéro degré centigrade, à moins sept ou à moins huit, nous observons les mêmes phénomènes qu'à l'état normal. Cherchons, sous des températures très basses quelque modification de ce liquide brun. Nous avons utilisé l'évaporation de l'éther, la neige carbonique, le mélange de neige carbonique et d'acétone.

L'éther, en s'évaporant, abaisse la température de l'objet qu'il baigne de moins seize à moins dix-sept degrés environ. Soumises à cette expérience, les cellules de *Radula complanata* présentent le phénomène de plasmolyse et le liquide vacuolaire disparaît. Mais aucune cristallisation ne se produit. Dans les cellules, replacées dans l'eau ordinaire, nous voyons la vacuole se gonfler d'un liquide brun.

A des températures plus basses, de moins 80°, obtenues avec la neige carbonique, de moins 180° avec le mélange neige carbonique et acétone, nous observons aussi le phénomène de plasmolyse et ni dissolution, ni cristallisation de la substance vacuolaire brune, ne se produit.

Le froid n'amène point de modification du liquide vacuolaire et ne révèle la présence d'aucun phénomène de cristallisation. Agissant sur les cellules, ces diverses substances pro-

duisent des phénomènes de plasmolyse, et des diffusions plus ou moins prononcées.

La dessiccation assèche le corps oléiforme tandis que sur le contour de la vacuole et la face interne de la membrane se dépose la substance brune. Ces cellules séchées, placées dans l'eau, montrent de nouveau une vacuole contenant un liquide brun.

B. — GLOBULES RÉFRINGENTS

Au sein de ce liquide vacuolaire examiné dans une cellule vivante se trouvent des globules réfringents, plus ou moins volumineux, animés de mouvement. Ce sont ces globules qui attirèrent principalement l'attention des observateurs, et leur ensemble répond à la définition du corps oléiforme.

a) *Morphologie*. — Nous avons fixé les images diverses que nous fournit l'examen de la morphologie de ces globules, dans la première partie de cette étude. Nous avons étudié leur forme variée et leurs rapports constants avec les différentes parties essentielles de la cellule.

b) *Anatomo-histologie*. — Quant à leur substratum anatomique, nous avons démontré que les hypothèses variées qui voulaient leur reconnaître une base albuminoïde ou autre ne correspondaient pas aux faits d'observation. Nous avons établi que les globules se trouvaient à l'intérieur des vacuoles.

c) *Réfringence*. — A l'examen d'une feuille de *Radula complanata*, montée dans l'eau, ils apparaissent avec netteté. Grâce à leur réfringence très grande, ils retiennent l'attention, leur brillant attire et étonne. C'est pourquoi ils sont devenus, pour tous les observateurs, le fait le plus important de l'étude des Hépatiques. Ces globules possèdent une réfringence très

grande et, selon l'éclairage et la mise au point, ils produisent des images et coloris variés, qui ont pu en imposer pour des réalités.

Nous connaissons les multiples images que peuvent fournir les phénomènes de réfraction et de diffraction.

Examinés dans l'eau ordinaire, les feuilles de *Radula complanata* montrent des globules de volumes variés, sphériques et brillants. Quand nous mettons au point sur leur partie médiane ils présentent une large surface brillante celle-ci diminue, mais reste éclairée, si nous relevons l'objectif; au contraire elle s'obscurcit avec l'abaissement de l'objectif. Ce sont des phénomènes qui se produisent sur les objets éclairés, placés dans un milieu moins réfringent.

Cherchons méthodiquement à établir un milieu présentant une réfringence, égale à celle de ces globules. Nous obtenons ce résultat avec une solution de chlorure de sodium à 20 %. Les globules nous apparaissent comme des lacunes dans le protoplasme.

Prenons un milieu de réfringence plus grande que celle des globules, de la glycérine par exemple; montons-y les feuilles de *Radula complanata*. Les globules possèdent un aspect spécial. Il faut tout d'abord tenir compte des phénomènes de plasmolyse cellulaire. Ceux-ci occasionnent l'exosmose du liquide de la vacuole; seuls les globules demeurent dans la vacuole, et, par suite de phénomènes d'adhérence, ils confluent ou presque. Alors la vacuole semble remplie d'un seul globule. Celui-ci présente une partie centrale d'autant plus claire et plus étroite, entourée d'un anneau obscur d'autant plus large que nous examinons un point plus rapproché de leur surface inférieure.

Ces phénomènes de réfringence se produisent dans le glo-

bule parce qu'il se trouve dans un milieu plus réfringent. Des images semblables nous sont données en examinant des feuilles de *Radula complanata* placées dans une solution saturée de chlorure de sodium.

Grâce à ces observations dans des milieux variés de réfringence différente, nous pouvons nous faire une idée exacte de la forme réelle du globule : c'est une sphère. Les descriptions que nous en avons faites d'après l'observation de la forme apparente demeurent intactes.

d) *Couleur du globule.* — Cette sphère examinée dans le liquide vacuolaire coloré, nous paraît, elle aussi, colorée. Est-ce le voile de couleur brune du liquide vacuolaire qui colore les globules ou sont-ils colorés eux-mêmes ? Ici interviennent encore des phénomènes de diffraction qui peuvent modifier l'apparence des globules et leur coloration. Nous voyons à la périphérie du globule des stries de diffraction. Le liquide qui baigne la plante, et la cellule elle-même, soumis à ces divers phénomènes d'optique, peuvent, à certains moments, donner l'illusion de teinte différente du brun et faire croire à une membrane isolant le globule. Mais la mise au point à des hauteurs diverses, comme nous l'avons fait ci-dessus, et la possibilité de modifier l'écartement des stries nous permettent d'interpréter ces images. En fait les globules nous semblent bruns et brillants.

Si nous chassons le liquide vacuolaire brun, en le dissolvant dans une substance adéquate, les globules eux aussi se décolorent et nous les observons transparents et brillants comme des gouttes de rosée.

Ecrasons une cellule de *Radula complanata* pour mettre en liberté ces globules. Hors la cellule, dans l'eau ordinaire, ces globules sont colorés en brun. Ils retiennent donc en solution

un peu de la substance brune dissoute dans le liquide vacuolaire.

Donc la coloration des globules du corps oléiforme est due surtout à l'interposition de la couche du liquide vacuolaire brun où ils se trouvent, et, en partie, à la couleur donnée par une petite quantité de substance brune qu'ils tiennent en solution.

e) *Emulsion de globules gros et petits.* — Globules, gros et petits, bruns et brillants, vus au microscope dans des cellules montées dans l'eau ordinaire, nous apparaissent animés de mouvements rapides de petite envergure: c'est une vraie trépidation de points brillants en suspension dans le liquide vacuolaire brunâtre.

Tous les observateurs depuis MIRBEL ont décrit des bulles, des gouttelettes, tenues en émulsion. Ils les décriront comme des formations très changeantes, pouvant se fondre les unes dans les autres. Malgré ces remarques, certains auteurs nous parlèrent de stroma albumineux, évitant toute explication, de ces deux idées contradictoires à première vue. Or, que voyons-nous à l'examen direct d'une feuille de *Radula complanata*, montée dans l'eau ordinaire?

A l'intérieur de la vacuole des cellules, nous apercevons les globules réfringents qui se tiennent en suspension dans le liquide vacuolaire, ainsi qu'une émulsion d'huile ou d'essence dans l'eau.

Comme ces corps, les globules présentent une forme ronde et un volume variable. Tous les globules, de quelque dimension qu'ils soient, nous les voyons comme de petites sphères.

Dans la vacuole d'une cellule examinée dans l'eau nous voyons les globules gros et petits avec toutes les tailles intermédiaires.

Prolongeant l'observation, nous voyons certains globules s'accoler à d'autres plus gros et se fondre avec eux.

Selon la nature du liquide vacuolaire, les globules se modifient. Dans l'eau la suspension est fine. Sous l'intervention d'un plasmolysateur, les globules se fusionnent en quelques gros globules, quelquefois en un seul qui occupe toute la vacuole; les feuilles remises dans l'eau, l'émulsion reparait comme primitivement.

Pourquoi les gouttelettes sont-elles rondes? Pourquoi se fusionnent-elles?

Ces corps réfringents sont des sphères en suspension dans un liquide. Nous pouvons raisonner par homologie; il existe un état tout à fait semblable dans le cas d'une substance non miscible à l'eau, l'huile ou l'essence. Ce corps se présente sous forme de sphères car c'est la forme qui résulte de l'équilibre des tensions superficielles entre tous les points de la substance. Ces globules sont situés dans un liquide de densité différente, de tension superficielle autre. Alors les actions des molécules des deux corps en présence sont différentes et les deux substances ne se mêlent pas. Il en est ainsi pour les globules et le liquide vacuolaire. Les globules ne sont pas miscibles à l'eau et y demeurent sous forme de gouttelettes.

Les globules ne restent pas épars, ils se rassemblent au milieu de la surface du liquide. C'est, en s'appuyant aussi sur l'existence des tensions superficielles, que nous pouvons expliquer ce dernier phénomène. Les globules ne sont pas mouillés par le liquide vacuolaire et ils s'attirent également. Et leur réunion se fera au centre de la vacuole, car la vacuole est remplie d'un liquide, qui se raccorde avec le protoplasme en présentant une surface convexe. Celle-ci repousse donc les globules vers le milieu de la vacuole.

Et alors, que deux gouttelettes sphériques entrent en contact en un point, les actions moléculaires en ce point deviennent symétriques; il n'y aura plus de tensions superficielles équilibrées. Les surfaces des globules se déformeront jusqu'à ce qu'il y ait une nouvelle gouttelette plus grosse et sphérique. Ainsi se fondent les gouttelettes.

f) *Mouvement des globules.* — Dans le liquide vacuolaire, ces gouttelettes demeurent séparées les unes des autres avant de se rejoindre. A ce moment, elles sont animées d'un mouvement caractéristique: elles se déplacent rapidement, avec brusquerie, parcourent une faible distance dans un sens, puis dans un autre, oscillent, s'agitent, tournent sur elles-mêmes en mouvements qui semblent désordonnés. C'est une danse rapide, une vraie trépidation des globules en suspension. Ceci est très net pour les globules petits. Les gros se déplacent beaucoup moins et leur mouvement lent devient imperceptible ou presque, quand le globule est très gros.

Sous la modification de la teneur en eau de la vacuole, le mouvement s'arrête. Les divers plasmolysateurs produisent le même effet pour une raison identique. Enfin l'action des substances fixatrices du protoplasmes n'occasionne pas toujours la cessation du mouvement des globules. Si les fixateurs arrêtent le mouvement des particules intraprotoplasmiques, en coagulant le protoplasme, il n'en est plus de même ici, à la condition que le fixateur ne modifie point la teneur en eau de la vacuole et ne dissolve les globules.

L'action de la lumière sur le mouvement des globules ne présente point de modification. Sous les radiations rouges, jaunes, vertes, bleues; les globules s'agitent toujours de la même façon. Une élévation de température de quelques degrés produit une augmentation de la rapidité du mouvement des globules.

Voyons ce que produit le courant électrique. Un courant continu traversant une préparation de cellules de *Radula complanata* montée dans l'eau ou dans une solution physiologique de chlorure de sodium, n'agit pas, d'une façon très précise sur le mouvement des globules.

Sous l'influence d'un courant induit, què se passera-t-il? Au centre d'une petite bobine d'induction, nous plaçons une préparation de feuilles de *Radula*. Après plusieurs minutes, après plusieurs heures, nous examinons les corps oléiformes et, toujours, nous y voyons les globules s'agiter.

Il ne s'agit pas de trépidation transmise, de courant de convection ou de causes diverses produisant des translations matérielles. Pour éliminer ces hypothèses, nous avons fait varier les observations. Nous voyons des globules voisins subir des déplacements sans aucun rapport entre eux. C'est donc que leur déplacement résulte de causes particulières agissant individuellement sur chaque globule. Du reste, nous n'avons pas obtenu de modification du mouvement avec les variations des forces mécaniques qui produisent les mouvements.

En résumé, le mouvement des globules est modifié et arrêté par toutes variations de la teneur en eau de la vacuole et pas sous l'influence d'un courant électrique. Eh bien, toutes ces propriétés, que nous a révélées l'analyse d'un mouvement des globules réfringents formant le corps oléiforme, nous permettent de caractériser ce mouvement: c'est un mouvement brownien.

Ici il s'agit d'une association de molécules et le mouvement perçu résulte de celui qui agite chaque molécule, de l'état cinétique des molécules.

A la lueur de cette conception de la matière, les physiciens

expliquent les phénomènes de tension superficielle, de diffusion et d'osmose.

Ainsi la forme, le volume, le mouvement, l'évolution des globules du corps oléiforme résultent de l'application des lois de la physique.

f) *Solubilité*. — Continuons l'examen des propriétés physiques de ces globules. Voyons quels sont les solvants de ces globules.

Reproduisant les expériences des divers observateurs, nous avons constaté la solubilité de ces globules réfringents, dans l'éther sulfurique officinal, l'éther de pétrole, l'acétone, le chloroforme, le benzol, le sulfure de carbone, l'alcool fort, l'acide acétique cristallisable, l'hydrate de chloral. Le toluène les dissout aussi. L'huile d'olive, l'essence de citron, de girofle les dissolvent également.

g) *Action de la température*: Que deviennent-ils sous une modification importante de la température: ébullition ou froid très bas?

Plaçons quelques feuilles de *Radula complanata* dans de l'eau que nous portons à l'ébullition et examinons-les ensuite au microscope.

Des globules du corps oléiforme, nous n'en voyons plus: ils se sont évaporés sans laisser de traces. Ces globules réfringents sont volatils.

Un froid de moins quinze degrés obtenu avec l'éther, de moins 80° avec la neige carbonique, ou de moins 180° n'amène aucune modification des globules dès que l'observation en devient possible. Le mélange de neige carbonique et d'acétone produisant une température d'environ moins 180° dissout les globules grâce à la présence d'acétone. Mais il n'apparaît pas de cristaux.

La dessiccation simple amène la disparition des corps oléiformes. Des feuilles de *Radula complanata* furent conservées entre les feuilles d'un papier journal, dans un endroit sec, pendant dix mois. Examinées après ce laps de temps, les cellules des feuilles étaient dépourvues, en grande majorité, de globules réfringents. Souvent les chloroplastes persistaient à côté d'une vacuole vide et ridée, reste du corps oléiforme.

Résumons les propriétés physiques du liquide vacuolaire et des globules dans le tableau suivant :

Après la lecture de ce tableau, nous voyons, en comparant les caractères des globules et ceux du liquide vacuolaire, qu'ils s'opposent nettement en tous points.

Soumis aux mêmes lois physiques, ils réagissent d'une façon différente, grâce à leur propriétés spéciales bien définies.

Voyons maintenant si cet antagonisme persiste au cours de l'examen de leurs propriétés chimiques.

Propriétés chimiques

L'étude du corps oléiforme nous ayant révélé la présence de deux substances différentes, nous continuerons à les envisager séparément au cours de l'étude de réactions chimiques.

A. — LIQUIDE VACUOLAIRE BRUN

a) *Colorations vitales*. — Essayons tout d'abord quelques colorations avec des produits qui ne tuent pas la cellule :

Le vert janus à 1/30.000^e donne une coloration verte et le violet de dahlia en solution très diluée une coloration violette.

Le bleu de méthylène colore en bleu et le vert de méthyle en vert.

Propriétés physiques du liquide vacuolaire et des corps réfringents, constituants les corps oléiformes du « *Radula complanata* » Dum.

PROPRIÉTÉS	LIQUIDE vacuolaire	GLOBULES réfringents
Morphologie	liquide	de volumes variés, animés de mou- vement brownien
Constitution	pas de substratum	pas de substratum
Couleur	brun foncé	
Solubilité dans :		légèrement brun
l'eau	soluble	insoluble
les solutions de NaCl jusqu'à 1,5 °	soluble	insoluble
l'éther sulfurique officinal	peu soluble	soluble
l'éther de pétrole	insoluble	—
l'acétone	—	—
le chloroforme	—	—
le benzol	—	—
le sulfure de carbone	—	—
l'acide acétique cristallisable	—	—
l'hydrate de chloral	—	—
le toluène	—	—
l'huile d'olive	—	—
les essences de citron	—	—
— de girofle	—	—
Propriétés optiques :		
spectre	spectre carac- téristique	spectre carac- téristique
réfringence	normale	très grande
fluorescence sous les rayons U. V.	rouge clair	rouge sépi.
Action de la température :	solubilité	volatilité
95° C	plus grande	pas de cristaux
0° C	pas de cristaux	—
— 7° et 8°	—	—
— 16° et 17°	—	—
— 180°	—	—
Dessiccation	persiste	volatilité

La cyanine donne une coloration bleue.

Ces phénomènes simples de coloration ne nous portent à aucune conclusion.

b) *Recherche de la basicité ou de l'acidité.* — Certains colorants attestent, par leur modification au contact des tissus, l'état d'acidité ou de basicité.

Une solution de tournesol rougit très faiblement.

Une solution de rouge neutre à 1/20.000^e donne, au liquide, une coloration rouge cerise.

Le bleu de crésyl brillant en solution aqueuse produit une coloration bleu pure.

Enfin, sous l'action du rouge congo, se produit une coloration bleue très pâle.

Malgré le peu de netteté de chacune de ces réactions, de leur ensemble se dégage l'impression que la substance manifeste réellement une tendance acide.

Soumettons cette substance à l'analyse chimique qualitative.

Auparavant nous ferons remarquer que le mélange du liquide vacuolaire et des globules réfringents ne permet pas d'observer avec précision la formation des précipités et surtout de les rapporter toujours uniquement à la solution vacuolaire.

c) *Réactions chimiques spécifiques.* — Cependant certaines colorations montrent une différence entre ces deux parties constituantes. Sur le frais, par l'action de sels de fer sur les cellules de *Radula complanata*, nous obtenons une coloration noire verdâtre du liquide vacuolaire. Une goutte d'acide osmique à 1 % assombrit immédiatement la substance brune.

Dès le début de ces deux observations, les globules réfringents conservent pendant quelques instants leur aspect normal. Au moment où nous saisissons la différence d'action de

ces essais microchimiques, les images observées attentivement nous montrent :

1° Avec les sels de fer : un précipité noir-verdâtre tout autour de la vacuole, en dessinant les limites. Cette coloration atteste la présence de tannoïdes en solution.

2° Avec l'acide osmique : nous voyons d'abord un noircissement de la substance liquide, puis les globules réfringents subissent l'action de l'acide osmique.

d) *Acides et bases*. — L'action des acides minéraux et des bases, en démolissant la cellule ne nous permettent pas d'observer avec précision l'action exercée par ces substances sur le liquide vacuolaire. La potasse donne un fin précipité rougeâtre.

e) *Sels et solutions*. — Certains sels d'argent, de mercure, de plomb, le bichromate de potasse, intensifient la couleur brune. La liqueur de Fehling disloque les constituants cellulaires à cause de la liqueur potassique qu'elle contient.

L'eau iodée rend plus intense la couleur brune du liquide vacuolaire.

Ces réactions chimiques, jointes aux propriétés physiques, étudiées plus haut, sont les caractéristiques microchimiques des tannoïdes.

Sous ce nom se rangent de nombreuses substances, sans doute très différentes les unes des autres au point de vue chimique.

f) *Fixateurs*. — Au lieu de continuer nos examens sur le frais, voyons ce que devient le liquide vacuolaire sur des coupes de feuilles de *Racula complanata*, après fixation et inclusion à la paraffine.

Comme fixateurs, nous avons employé des solutions de

corps simples et des mélanges définis qui précipitaient et insolubilisaient les tannoïdes.

Certaines méthodes, dites « mitochondriales » et quelques méthodes usuelles préservent ces substances. Nous les avons déjà nommées. Après de nombreux essais parmi ces fixateurs, nous avons retenu les suivants :

1° Fixateurs en solution : acide osmique, bichromate de potasse.

2° Mélanges fixateurs : Regaud, Champy.

Les images observées sous l'action de ces divers fixateurs rappellent en tous points celles que nous avons signalées en faisant des préparations sur le frais. Nous remarquons un précipité plus ou moins volumineux occupant la vacuole centrale. Ce précipité conserve la forme des vacuoles qu'il remplit entièrement. Il nous apparaît constitué par un réseau dont les interstices sont arrondis et vides (fig. 1, pl. VII). Ce réseau sera coloré en noir ou en jaune, selon l'action de l'acide osmique ou du bichromate de potasse. Cette coloration jaune apparaît encore avec le mélange de Regaud où entre du bichromate de potasse ; mais avec le mélange de Champy se crée une sorte de coloration intermédiaire brun foncé. Pour interpréter ces images à leur juste valeur, il faut nous servir des observations faites dans les chapitres précédents. Tout d'abord la constance de l'image sous les divers réactifs nous en montre la réalité. Celle-ci est attestée par les examens sur le frais où l'on voit les globules réfringents immergés dans le liquide brun vacuolaire. Enfin nous pouvons rejeter l'idée d'un substratum protéique pour les raisons données dans les pages précédentes et par le fait net de la disparition de ce réseau avec les méthodes cytologiques qui n'insolubilisent pas les tannoïdes. Ceux-ci paraissent, ici, tenir en suspension les globules réfringents

qui furent dissous au cours des manipulations, sauf dans quelques cellules, fixées par l'acide osmique. Mais, dans ce cas, il devient difficile de distinguer la relation entre le liquide vacuolaire et les corps réfringents, car tous les deux sont colorés en noir.

f) *Fixateurs et colorants*. — Adjoignons à ces fixateurs quelques colorations, pour mettre en évidence ces précipités vacuolaires. Nous avons employé l'hématoxyline et la fuchine acide. Les préparations à l'hématoxyline ferrique Champy nous fournirent les meilleurs résultats. Le précipité des tannoïdes prend une teinte brun noir ou plutôt mordoré (fig. 6, pl. VIII).

B. — GLOBULES RÉFRINGENTS

Au cours de l'étude de cette solution de tannoïdes, nous avons entrevu quelques caractères des globules réfringents en suspension; mais les colorants unissent quelquefois, sous une couleur uniforme, liquide vacuolaire et globules.

a) *Colorations vitales*. — Sous l'action des colorants vitaux, les globules prennent des teintes diverses. Tantôt ils épousent la couleur du réactif: ainsi le vert d'iode, le vert janus, les colorent en vert; le violet de dahlia, en violet; le bleu de méthylène, le bleu de toluidine, la cyanine, en bleu. Tantôt ils se présentent avec une couleur différente de celle du colorant par métachroïatisme. Tel est le cas du violet neutre en solution aqueuse à 1/5.000^e qui donne une coloration bleue aux globules.

b) *Recherche de la basicité ou de l'acidité*. — Certains colorants, révélateurs de l'acidité ou de l'alcalinité du milieu, peu-

vent produire des colorations variées. Le rouge congo produit une faible coloration bleue pâle. Avec le vert de méthyle, les globules se colorent en vert plus ou moins intense. Sous l'action du rouge neutre, les globules prennent une coloration rouge cerise; sous celle du bleu de crésyl brillant (cresylblau), ils se colorent en bleu.

Ces colorants indicateurs nous montrent une réaction légèrement acide au contact des globules réfringents.

c) *Colorations spécifiques.* — Outre ces renseignements obtenus avec les colorations vitales, l'emploi de divers colorants nous révèle des indications spéciales qui pourront nous mettre sur la voie de la nature de ces éléments.

Avec la solution de LEISHMAN, les globules se colorent en bleu. L'eau iodée fonce la couleur bruné du corps oléiforme.

La teinture d'alkanna donne sa couleur rouge aux globules, le soudan III, les colore en rouge brique. Ces deux réactifs nous fournissent de bons résultats à la condition de les employer très fraîchement préparés. Ces solutions indiquent la présence de graisse, ou d'huile essentielle, ou de résine.

Voyons d'autres réactions colorées qui permettront de vérifier cette indication et de la préciser, autant que peuvent se préciser des modifications de couleurs.

Nous avons utilisé le violet de HANSTEIN, le réactif de MESNARD et le réactif UNVERDORBEN-FRANCHIMONT.

1° *Le violet de Hanstien* est une solution alcoolique à parties égales de violet d'aniline et de violet de rosaniline. Ce mélange donne une couleur bleue pure avec les résines et les huiles essentielles. Les globules du corps oléiforme se colorent en bleu pur. Ceux-ci appartiennent donc à la classe des résines ou des huiles essentielles.

2° *Le réactif d'Unverdorben-Franchimont.* — Ce réactif se compose d'une solution concentrée d'acétate de cuivre. L'expérience se fait de la façon suivante: après avoir fait subir à des fragments de la plante un bain de six jours dans le réactif, nous les lavons à l'eau et nous en faisons des coupes.

Les résines et les huiles essentielles apparaissent colorées en vert émeraude. Cette réaction est inconstante. Les feuilles de *Radiola complanata* soumises à cette manœuvre montrent des globules réfringents colorés en vert émeraude et situés dans la vacuole centrale des cellules. Toutes les cellules ne présentent pas les globules colorés, sans doute, ici, comme dans les autres colorations ci-dessus, nous devons tenir compte de la membrane osmotique, de la tension superficielle, et de la pression osmotique des solutions en contact;

Nous aurions donc affaire à des résines ou à des huiles essentielles. C'est la confirmation de la donnée du premier réactif.

Tous ces deux réactifs nous incitent à rechercher une différenciation entre les essences et les résines. Le réactif de MESNARD nous donnera la solution du problème.

3° *Réactif de Mesnard.* — Ce réactif utilise le réactif de BROEMER composé de la façon suivante :

Tungstate de sodium	1 cm ³
Acétate de sodium	2 —
Eau q. s. p.	10 —

Sous l'influence de ce réactif, les tannins se colorent en jaune fauve. Cette coloration apparaît après seize heures de contact, se précise vers la vingt-huitième heure pour être très nette vers la soixante-quatrième heure. A ce moment, nous lavons la préparation à grande eau. Puis nous l'exposons aux vapeurs d'acide chlorhydrique. Alors les essences apparaissent

comme des globules sphériques, d'aspect huileux, colorés en jaune d'or, quelquefois lavés d'une teinte verdâtre. Cette coloration est éphémère et passe en cinq minutes.

Les feuilles de *Radula complanata*, soumises à ce réactif, nous révèlent dans le corps oléiforme des cellules, des globules jaunes dorés, réfringents; après dix minutes d'observation, la teinte diminue d'intensité et prend une couleur jaune vert. Les globules réfringents se présentent ainsi comme des globules d'essence.

Soumettons ces globules à l'analyse chimique qualitative.

d) *Action des acides*. — Sous l'influence des acides, la cellule est détruite et les globules persistent. Ceux-ci se présentent sous les aspects suivants :

Avec l'acide sulfurique, l'acide azotique, l'acide chlorhydrique, en solution concentrée, il y a mise en liberté des corps oléiformes et des globules réfringents. Si nous observons ceux-ci en mettant au point sur la périphérie de leur diamètre maximum, nous les voyons colorés en brun avec un centre clair. En faisant varier la mise au point au-dessus ou au-dessous, la périphérie du globule demeure d'une couleur brun-rouge et le centre montre une coloration bleue sale claire, très peu intense.

e) *Action des bases*. — L'action des bases nous fournit quelques faits intéressants :

1° La soude ou la potasse à 25 % ne dissout pas les globules réfringents, mais augmente l'intensité de la coloration brune quand on examine les feuilles de *Radula complanata* montées dans ce même liquide.

2° Plaçons des feuilles de cette Hépatique, pendant quinze minutes, dans une solution de potasse à 25 % ; puis lavons les pendant quinze minutes à l'eau courante. Sous l'influence de

la potasse, des savons se forment au contact des graisses, et des précipités avec les tannoïdes. Savons et précipités sont entraînés par le lavage. Seuls restent des corps insolubles : les globules du corps oléiforme. Cette propriété nous indique bien qu'ils ne sont pas formés par un corps gras, mais par une essence. Et celle-ci n'est pas riche en phénol, car elle serait dissoute par la potasse.

L'emploi d'un alcali, comme l'ammoniaque, ne solubilise pas les globules réfringents, mais leur donne une coloration brun verdâtre. Ce phénomène est probablement dû à l'action simultanée de la chlorophylle dissoute et du liquide vacuolaire brun.

Combinons l'action d'une base et de cet alcali. Faisons un mélange à parties égales de potasse concentrée et d'ammoniaque. Mettons-en deux gouttes sur une lame et plaçons-y une feuille de *Radula complanata*. Recouvrons le tout d'une lamelle. Si les matières grasses étaient la constituante des corps oléiformes, nous verrions ceux-ci se saponifier sous nos yeux, et être entraînés par un lavage sous la lamelle. Il n'en est rien. Nous voyons les cellules se détruire, des composés, des précipités se former et disparaître sous le lavage, mais les globules réfringents restent intacts. Ils ne sont donc pas constitués par de la graisse.

f) *Action des sels et solutions.* — Soumis à l'action de quelques essais chimiques, les feuilles de *Radula complanata* nous permettent de noter les faits suivants. Une goutte d'acide osmique (tétroxyde d'Osmium : OsO_4) brunit le corps oléiforme ; peu à peu la coloration se fonce pour devenir noir bleuâtre. L'action d'une solution de perchlorure ferrique montre les globules réfringents brillants et peu colorés, au milieu du liquide vacuolaire noir verdâtre. Le bichromate de potasse

intensifie la faible couleur brune des globules, qui se colorent en jaune clair.

g) *Fixateurs*. — Recherchons l'action des fixateurs sur les coupes de feuilles de *Radula complanata*. Nous avons employé plusieurs mélanges fixateurs :

1° Mélanges fixateurs à base d'acide picrique : picroformol de BOUIN, DUBOSQ-BRASIL, MANN, MEYER.

2° Mélanges fixateurs à base de formol-alcool.

3° Mélanges fixateurs à base d'alcool.

4° Mélanges fixateurs à base de sublimé corrosif : sublimé acétique, MANN, GILSON.

A l'examen de nombreuses préparations, nous n'avons pas retrouvé les globules réfringents ; toujours leur emplacement est représenté par une lacune (fig. 7, pl. VIII). Peut-être que les méthodes qui utilisent l'acide osmique et le bichromate de potasse, ou celles à base d'acétate de cuivre, pourraient nous donner une meilleure conservation.

Avec le mélange Bouin-Hollande, à base d'acétate de cuivre, les coupes, fixées, ne nous fournirent pas de préparation à globules réfringents. Ceux-ci ont dû s'en aller au passage des divers alcools.

Comme mélanges fixateurs à base d'acide osmique, nous avons utilisé :

1° Des mélanges contenant de l'acide acétique : FLEMMING, HERMANN, BOTREL, LINDSAY-JOHNSON.

2° Des mélanges sans acide acétique : LINDSAY-JOHNSON, ALTMANN, CHAMPY et KULL-CHAMPY.

Les premiers mélanges ne nous montrèrent point d'images précises, car la substance des globules est soluble dans l'acide acétique (fig. 8, 9, pl. VIII) : Nous ne retiendrons que les préparations obtenues avec les trois derniers mélanges et, en

particulier, avec celui de Champy. Celui-ci ne conserve pas les globules mais précipite les tannoïdes qui dessinent quelquefois un réseau où devaient se trouver les corps réfringents (fig. 1 b, pl. VII).

Les mélanges à bases de chrome, que nous avons employés pour fixer nos pièces, sont des mélanges qui contiennent les uns de l'acide acétique : celui de Von TELLYESNICZKY et celui de ZENKER, les autres sans acide acétique : ORTH et HELLY, REGAUD IV (fig. 1 a, pl. VII).

Ces diverses préparations nous ont montré, sur l'emplacement du corps oléiforme, soit des lacunes dans le protoplasme, entourées plus ou moins d'un cercle jaune brun, soit des réseaux, colorés en jaune, qui contenaient les globules dissous. Cercles jaune brun, réseaux jaunes, représentent les précipités des tannoïdes sous l'action du bichromate de potasse.

La série des opérations d'inclusion utilise divers hydrocarbures qui peuvent modifier les globules réfringents. Aussi nous avons utilisé la fixation par les vapeurs d'acide osmique, et la déshydratation consécutive fut faite avec l'éther de pétrole. Mais l'ennui de cette méthode, c'est la fixation en bloc des globules et des tannoïdes. Aucune distinction n'est possible entre eux.

h) *Fixateurs et colorants*. — A ces divers fixateurs, nous avons joint l'emploi de colorants variés pour tenter de mettre en évidence la substance des globules. Avec chaque fixateur, nous avons associé des colorants ordinaires et spéciaux.

TABLEAU.

Fixate	Colorants
Mélange à base d'acide picrique.	hématoxyline.
de formol alcool	hématoxyline ou bleu polychrome.
d'alcool	
de sublimé corrosif	
d'acétate de cuivre	
d'acide osmique	hématoxyline ou méthode d'Altmann.
	ou méthode de Galleotti après Champy.
	ou méthode de Champy.
	ou méthode de Kull-Champy.
Mélanges à base de chrome	hématoxyline ou bleu polychrome.
	ou fuschine acide à froid ou à chaud
	ou méthode de Benda
	ou méthode de Regaud IV.

Nos efforts furent vains. Seul l'acide osmique a pu précipiter en noir intense la substance constituante des globules. Dans ce cas, les colorants n'ont été d'aucune utilité; après l'action des autres fixateurs il nous montrèrent l'emplacement des globules vides (fig. 11, pl. VI; fig. 9, pl. VII).

Au cours de l'étude des propriétés chimiques du corps oléiforme, nous avons trouvé des propriétés différentes pour le liquide vacuolaire et pour les globules réfringents. Nous les résumons dans le tableau suivant (voir ci-contre).

Comparons les deux tableaux résumant les caractères physiques et chimiques du corps oléiforme chez le *Radula complanata*.

Nous voyons que, d'une part, le liquide vacuolaire possède des propriétés caractéristiques des tannoïdes et, d'autre part les globules réfringents se présentent avec toutes les qualités requises pour être considérées comme des globules d'essence.

Ainsi l'étude microscopique des cellules de *Radula complanata* nous a révélé la présence dans chaque cellule d'une grande vacuole centrale contenant des globules d'essence en suspension dans une solution de tannoïdes.

Propriétés chimiques du liquide vacuolaire et des globules réfringents, constituant les corps oléiformes du « Radula complanata » Dum.

RÉACTIFS	LIQUIDE vacuolaire	GLOBULES réfringents
Colorants vitaux	mêmes couleurs	même couleurs
Acidité ou basicité	acidité	acidité
Colorants spécifiques :		
sels de fer	noir verdâtre	très peu colorés
ac. osmique	noir	brunâtre
teint. d'alkanna	o	rouge
soudan III	o	rouge brique
violet de Hanstein	o	bleu
réactif d'Unverdorben-Franchi- mont.	o	vert
réactif de Mesnard	jaune fauve	jaune d'or
Acides	décoloration	insolubles
Bases	fin précipité rou- geâtre (surtout avec la potasse)	insolubles
Sels d'Ag, Pb, Hg, Cr	brun foncé	peu colorés
Fixateurs à base de Cr.	précipité : jaune brun	o
— à bases d'Os O ₄	noir	noir
Fixateurs et colorants	noir	noir

ETUDE PHYSICO-CHIMIQUE DES PRODUITS DE LA DISTILLATION
DES FEUILLES DU « RADULA COMPLANATA » DUM

A côté de ces faits microscopiques, nous avons essayé de mettre en évidence dans les produits de distillation de ces plantes, par des réactions physiques et chimiques caractéristiques, les deux substances que nous avons trouvées dans les corps oléiformes (1).

I. — ESSENCE

a) *Distillation*. — Pour démontrer la présence de l'essence, nous devons l'extraire de l'Hépatique. Nous avons à notre disposition plusieurs procédés, tels ceux que les fabricants d'essence utilisent : extraction au moyen de dissolvants volatils ou non volatils. Après divers essais, nous nous sommes rallié à la méthode de distillation avec la vapeur d'eau. Ce procédé présente de grands avantages. Il permet d'isoler les huiles essentielles à l'état de pureté et il fournit le meilleur rendement. En outre, il ne nécessite qu'un matériel assez restreint et peu dispendieux. C'est aussi l'expérience qu'exécuta PFEFFER pour conclure à la nature grasse des corps oléiformes. Voyons la technique et l'analyse physico-chimique des produits qui passent à la distillation et de ceux qui demeurent. L'opération fut conduite de la façon suivante :

Technique. — Nous faisons une récolte très abondante de *Radula complanata*. Nous nettoyons l'Hépatique de débris

(1) C'est à la Faculté de Pharmacie de Nancy, au laboratoire de Pharmacie galénique dirigé par M. le professeur Grelot, que nous avons poursuivi ces recherches, avec l'aide de M. le préparateur Robert, pharmacien de 1^{re} classe.

d'écorce, de plantes, de toutes matières étrangères. Nous pesons la quantité de plantes recueillies. Nous la plaçons dans un appareil à distillation en cuivre, et nous y versons de l'eau ordinaire jusqu'à ce que l'Hépatique soit submergée, c'est-à-dire environ 3500 cc. d'eau pour 1000 gr. de substance sèche. Alors nous fermons le couvercle où se trouvent une soupape et un thermomètre. Ce réservoir est en relation avec l'extérieur par un long conduit, vrai serpentín métallique, qui traverse un réfrigérant. A l'extrémité de ce conduit, nous recueillons l'eau de condensation de la vapeur d'eau qui contient l'huile essentielle entraînée. A ce moment, la distillation se produit à une température de 98 degrés centigrades.

b) *Caractère physico-chimiques du distillat.* — La distillation de l'Hépatique, en présence de l'eau, ne donne pas de l'eau distillée comme le disait PFEFFER, mais un liquide opalescent comme une solution d'une substance colloïdale.

Dans ce liquide apparaissent de très petites gouttelettes, les unes à la surface, les autres à divers niveaux de profondeur du récipient ou au fond.

Elles semblent demeurer à l'endroit où les a propulsées la force de la vapeur du tuyau d'échappement. Ces gouttelettes ne présentent aucune tendance à monter à la surface. Certaines, plus grosses, mesurent de 2 à 3 m/m de diamètre, et résultent de la fusion de plusieurs petites gouttelettes; d'autres sont très petites, visibles à la loupe ou au microscope. En effet, une goutte de ce liquide opalescent, placée entre lame et lamelle, et observée au microscope, nous montre une émulsion de nombreuses gouttelettes de volumes variés. Ces gouttelettes sont légèrement teintées d'une couleur brun clair; mais le liquide qui les contient demeure opalescent, translucide, et transparent sous une faible épaisseur. Il dégage une

odeur forte rappelant celle de la marée. Sa saveur est âcre et nauséuse, happant à la langue. Composé d'eau distillée contenant en suspension de fines gouttelettes, ce liquide ressemble à une solution colloïdale.

Comment séparer le corps en suspension de l'eau distillée?

Il fallait trouver pour dissoudre ces gouttelettes, une substance chimique, non miscible à l'eau.

Après quelques tâtonnements et divers essais, nous avons choisi l'éther sulfurique pur, rectifié à 65°. Nous mettons le liquide, passé à la distillation, dans une fiole à décantation, puis nous y ajoutons ensuite le 1/10^e de son volume d'éther. Nous agitons la fiole à plusieurs reprises et laissons reposer dix minutes. Nous soutirons l'eau distillée d'abord, et l'éther ensuite. Pour récupérer le corps dissous, nous faisons évaporer l'éther. Alors apparaissent, sur le fond et les parois du récipient, des gouttes transparentes, huileuses, puis légèrement teintées de brun après quelques heures d'exposition à l'air. Le volume de cette substance, extraite des feuilles de *Radula complanata* était de 0 cm³ 09 pour 100 grammes de substance sèche.

Etudions les propriétés de ce nouveau corps. C'est un liquide huileux de consistance épaisse, un peu visqueux. Au début de la récupération, il est transparent; mais bientôt apparaît une teinte brun clair, qui augmente d'intensité et se fonce avec le temps. L'odeur qu'il répand est forte, rappelle l'huile rance ou plutôt la marée. Sa saveur est âcre et nauséuse, il happe à la langue et donne une sensation de brûlure légère. Ce sont les caractères de la solution aqueuse et ceux de la plante, mais plus accentués. En effet, si nous froissons des feuilles de *Radula complanata*, nous sentons une odeur spéciale, semblable à celle-là; odeur qui se decelait facilement

quand nous recueillions cette plante sur les troncs d'arbres dans les sous-bois. A l'examen microscopique, les cellules de *Radula complanata* nous avaient révélé la présence de corps très réfringents; cette réfringence nous l'avons retrouvée dans la solution aqueuse, et là, le corps purifié nous la montre avec évidence. Mesurons-la au réfractomètre de PULFRICH. Nous avons utilisé la lumière du sodium et opéré à une température de 20°. Nous avons trouvé: $n_D^{20} = 1,5419$.

Recherchons une autre propriété optique: le pouvoir rotatoire. Nous avons été obligé de diluer ce corps dans l'alcool absolu neutre pour faire disparaître l'obstacle qu'apportait la couleur brun foncé. Nous avons utilisé un polarimètre avec lampe à mercure. Nous n'avons enregistré aucune déviation de la lumière polarisée. Ce corps est donc inactif.

A l'aide d'un picnomoètre, nous avons cherché le poids spécifique du liquide et nous avons trouvé $d^0 = 0,93$, l'expérience se passant à 18°.

Au point de vue de la solubilité, ce liquide est soluble dans les dissolvants organiques ordinaires tels que: l'alcool absolu, l'alcool à 95°, l'éther, le chloroforme, la benzine, l'acide acétique cristallisable, le sulfure de carbone.

C'est un corps inflammable et entièrement volatil. Au contact du papier, il produit une tache huileuse qui disparaît à l'air libre.

Il est très faiblement acide à la phénolphthaléine.

En résumé, l'hépatique *Radula complanata* fournit, par distillation, une substance entraînable par la vapeur d'eau. C'est un liquide huileux, entièrement volatil et non miscible à l'eau.

Ces caractères représentent précisément ceux des essences. Ce liquide extrait du *Radula complanata* peut donc être consi-

déré comme une essence, dont il possède d'ailleurs les caractères analytiques énumérés précédemment.

c) *Constitution chimique.* — Quant à la nature de cette essence, que pouvons-nous en dire d'après les caractères physico-chimiques que nous connaissons? (1).

Le poids spécifique, supérieur à 0,90 et inférieur à 1, nous porte à penser qu'il existe dans cette essence des combinaisons chimiques appartenant à des classes diverses.

Par suite de l'absence de soufre et d'azote, nous éliminons certaines combinaisons.

La mesure de l'activité optique, et en particulier une réfraction moléculaire très élevée, permet de conclure à la présence de composés renfermant des liaisons doubles: des hydrocarbures alicyliques.

Ce sont principalement ceux que l'on rencontre dans les huiles essentielles. C'est le groupe des terpènes et des sesquiterpènes, hydrocarbures qui se trouvent tout formés dans la nature. Ceux-là apportent surtout le parfum, ceux-ci ne semblent jouer qu'un rôle secondaire et se manifestent par leur facilité à se résinifier à l'air.

C'est le cas de notre essence qui, exposée quelques heures à l'air, prend une couleur brune de plus en plus sombre et devient plus visqueuse.

La difficulté de se procurer cette essence ne nous a pas permis d'isoler chacun de ses constituants. Car, pour mener à bien cette opération, il faut une quantité de matière première assez abondante, et puis l'étude approfondie des sesquiterpènes n'a été faite que pour un petit nombre d'entre eux.

(1) Pour établir ces conclusions, nous avons utilisé la méthode que Gildmeister enseigne dans son livre : « Les huiles essentielles ».

De l'analyse des divers caractères de cette essence, nous pouvons conclure qu'elle est un composé complexe, renfermant très probablement un mélange de terpènes et de sesquiterpènes.

II. — TANNIN

Maintenant, portons notre attention sur le résidu de la distillation des feuilles de *Radula complanata*.

a) *Propriétés physiques*. — Dans l'alambic demeurent les feuilles de l'Hépatique, qui nagent dans un liquide brun jaune. Celui-ci conserve encore un peu l'odeur de la plante et sa saveur est légèrement âcre. Après filtration, il apparaît jaune brun foncé et transparent.

Examinons, au spectroscopie, ses propriétés optiques. Entre les bandes C et D, nous voyons une zone très légèrement obscurcie et comprise entre les graduations 0 μ 60 et 0 μ 625. Puis, à droite de la bande D, vers la graduation 0 μ 68, les couleurs du spectre commencent à s'obscurcir progressivement; et en B, à droite de la bande E, l'obscurité du spectre est totale. (Voir fig. 1, pl. VI.)

Comparons ce spectre au spectre chlorophyllien des feuilles de Hêtre par exemple. Nous voyons qu'ils ne sont pas superposables. Dans le spectre du liquide brun, nous ne retrouvons pas les bandes noires caractéristiques de la chlorophylle, entre B et C d'une part et entre C et E d'autre part (voir fig. 2, pl. VI).

Guidé par l'analyse microchimique, nous sommes conduit à induire de ces constatations qu'il s'agit probablement du spectre d'une solution de tannin. Pour exécuter une vérification, nous faisons une solution à 5 % de tannin à l'éther dans l'eau distillée; puis nous plaçons cette solution dans une

fiolle en verre blanc, bouchée avec du liège, et nous l'abandonnons à la lumière solaire pendant quelques jours. Cette solution brunit vite et, bientôt nous voyons un liquide jaune brun, de couleur analogue à celui que nous essayons de déterminer. Cette solution colorée de tannin est examinée au spectroscope.

Nous observons un spectre en tous points comparable et superposable à celui du liquide recueilli dans le résidu de la distillation des feuilles de *Radula complanata*.

b) *Propriétés chimiques.* — Soumettons ce liquide à l'analyse chimique qualitative. Après quelques essais, une réaction caractéristique avec le perchlorure de fer nous porte à penser qu'il s'agit ici d'une solution de tannin. En effet, le perchlorure de fer donne une coloration brun noir. Ainsi nous sommes conduit à exécuter les diverses réactions chimiques caractéristiques des tannins. Ce liquide est peu soluble dans l'alcool, insoluble dans l'éther, la benzine, le chloroforme. Au contact du tournesol, il le rougit et marque ainsi son acidité.

Sous l'action des acides minéraux, le liquide s'éclaircit. Ajoutons une base, la couleur se fonce.

Successivement ajoutons acides et bases. Que se passe-t-il ? Après l'acide le liquide devient clair, transparent ; ajoutons une base, le liquide redevient jaune brun, et ainsi de suite.

Avec le bichromate de potasse, il donne une coloration jaune brun.

Les alcaloïdes comme la quinine, la codéïne, sont précipités par le résidu de la distillation.

Celui-ci produit un autre précipité si nous ajoutons de l'émétique.

Il reste encore précipité par l'acétate de plomb.

Avec l'acétate de mercure concentré, nous voyons se produire un précipité floconneux brunâtre.

Ce liquide brun jaune réduit diverses solutions : 1° la liqueur de Fehling ; 2° les sels d'argent ; 3° les sels d'or.

L'étude de ces propriétés physico-chimiques nous amène à conclure que le liquide jaune brun, résidu de la distillation de l'Hépatique étudiée, contient du tannin.

Tannin et essence, tels sont les deux constituants que nous a révélés l'étude physico-chimique du *Radula complanata*.

II. — ETUDE DES HÉPATIQUES DES ENVIRONS DE NANCY

A côté de cette monographie, il était intéressant d'étendre le champ de nos investigations et de jeter un coup d'œil sur les autres familles d'Hépatiques dont nous possédons des représentants dans les environs de Nancy.

Pour l'étude de ces Hépatiques, nous avons suivi le même plan et la même méthode que ceux utilisés dans l'étude précédente du *Radula complanata*. Successivement nous avons porté notre observation sur la constitution anatomique et physico-chimique des corps oléiformes.

Nous avons observé d'abord au microscope, puis nous avons recherché au point de vue macroscopique la vérification de ces constatations. Les difficultés matérielles de récolte et de distillation ne nous ont pas permis d'isoler une quantité d'essence pure aussi importante que celle du *Radula complanata*. La distillation à la vapeur d'eau nous a fourni une solution opalescente où se trouvaient en suspension les gouttes d'essence. C'est à l'aide de cette solution que nous avons vérifié les caractères macroscopiques des essences, utilisant quelques gouttes d'essence pure pour les réactions spécifiques. C'est, du reste, la méthode que suivirent les savants qui s'occupèrent de l'étude des huiles essentielles de ces Hépatiques.

Nos résultats concernant les essences des Hépatiques ressemblent à ceux des expérimentateurs qui nous ont précédé et concordent en tous points.

Nous grouperons les Hépatiques par famille, en commençant par les Hépatiques à feuilles, proches du *Radula complanata*.

A. — JUNGEMANIALES

1° *Frullania dilatata* Dum. — Chaque cellule de la plante contient plusieurs corps oléiformes. Ces globules réfringents possèdent les propriétés physico-chimiques des essences, tant au point de vue microscopique que macroscopique. Dans ce dernier cas, nous avons obtenu à la distillation une suspension de nombreux globules d'essence dans l'eau distillée. Celle-ci rappelle l'odeur et le goût de la plante fraîche froissée. Le résidu de la distillation est coloré en brun foncé et donne les réactions des tannins. Nous avons pu mettre en évidence la présence des tannins, dans les corps oléiformes.

2° *Scapania aequiloba* Dum. — Les gros corps réfringents des cellules représentent les globules d'essence, dont ils possèdent tous les caractères analytiques. Sous l'action des sels de fer, un léger précipité noir se forme dans les corps oléiformes, y attestant la présence de tannoïdes.

3° *Madotheca platyphylla* Dum. — Les corps oléiformes des cellules offrent tous les caractères physico-chimiques des essences; en plus nous y avons trouvé la présence de petites quantités de tannin. L'eau de distillation renferme des globules d'essence et dégage une odeur âcre rappelant celle de la plante fraîche. Son goût est amer comme celui de l'Hépatique.

A l'intérieur des cellules, dans le cytoplasme, MOLISCH,

en 1911, a décrit une substance dissoute qui se colore en rouge violet sous l'action d'une solution iodo-iodurée.

4° *Plagiochila asplenoides* Dum. montre des corps oléiformes dont toutes les propriétés sont celles des essences. A la distillation passent des gouttelettes d'huile essentielle, à l'odeur faible et saumâtre comme celle de toutes ces plantes. Les corps oléiformes renferment du tannin. Chez *Plagiochila interrupta*, nous avons fait des constatations analogues.

5° *Lejunea serpyllifolia* Lib. possède des corps oléiformes qui nous donnent toutes les réactions caractéristiques des essences. Ici nous avons pu mettre en évidence du tannin, localisé à l'intérieur des corps oléiformes.

6° *Chiloscyphus polyanthus* var. *pallescens* Lindenb. renferme dans ses cellules des corps oléiformes dont l'étude nous a montré la constitution chimique: ce sont des globules d'huile essentielle. Ces corps oléiformes renferment aussi du tannin. Nous avons retrouvé dans le protoplasme de cette Hépatique une coloration rouge violette avec la solution iodo-iodurée. Elle indique la présence d'une substance analogue à celle qui fut trouvée chez *Madotheca platyphylla*, par MOLISCH.

7° *Aplozia riparia* Dum. possède des corps oléiformes, vrais globules d'essence, où se trouve aussi un peu de tannin.

8° *Lophocolea bidentata* Dum. contient dans ses cellules des corps oléiformes constitués par des globules d'essence en suspension dans une solution faible de tannin.

9° *Lophocolea heterophylla* var. *minor* Douin. — *Lophocolea heterophylla* montre des corps oléiformes qui donnent des réactions analogues à celles obtenues avec ceux du *Lophocolea bidentata*: essence en suspension dans une solution de tannin.

10° *Lophozia Muelleri* var. *Hornschuchiana* Mac. nous montre dans ses cellules des corps oléiformes qui contiennent des globules d'essence et de tannin.

11° *Pellia epiphylla* Corda fut étudié par LOHMANN. Fraîche, cette plante n'a pas d'odeur très prononcée. Sa saveur est vive et brûlante comme celle du cresson. Sèche, elle dégage une odeur de poisson. Le rendement en essence est de 0 gr. 02 pour 100 grammes de substance sèche. Nous avons recherché les caractéristiques microchimiques des essences et nous les avons trouvées dans les corps oléiformes. A la distillation, les globules d'essence passaient avec la vapeur d'eau. Les réactions des sels de fer nous montrèrent la présence de tannin dans les corps oléiformes.

12° *Metzgeria furcata* Dum. est cité dans l'étude de LOHMANN. Cet auteur résume ses investigations en écrivant que la plante fraîche sans odeur et peu de saveur, donne 0 gr. 01 d'essence pour 100 grammes de substance sèche et qu'avec l'eau de distillation, il obtenait des réactions de coloration avec le sublimé et le réactif de NESSLER.

Nous avons constaté que cette plante, en grande masse, dégageait une odeur de marée très nette et que sa saveur était amère. Les réactions microchimiques attestent bien que les corps oléiformes sont constitués par des globules d'essence avec un peu de tannin. Nous avons recueilli des globules d'essence en suspension dans l'eau de distillation et essayé diverses réactions chimiques qui confirmèrent notre opinion sur la présence d'essence et de tannin.

13° *Metzgeria furcata*, var. *prolifera*, *Metzgeria conjugata* Lindb. possèdent des corps oléiformes que nous pouvons considérer comme des globules d'essence en suspension dans une solution faible de tannin, étant données leurs propriétés physico-chimiques.

14° *Aneura pinguis* Dum. fournit à la distillation une huile essentielle que nous avons localisée dans les corps oléiformes de ses cellules. Ceux-ci renferment aussi du tannin.

B. MARCHANTIALES

1° RICCIACÉES

1° *Riccia glauca* L. — Plante sans odeur et de saveur âcre, elle laisse passer avec la vapeur d'eau des globules d'essence. Cette expérience est difficile à réaliser à cause de la petitesse de la plante et de la pauvreté des stations. Cette huile essentielle se trouve dans les corps oléiformes colorés en brun par du tannin.

2° MARCHANTIACÉES

1° *Lunularia cruciata* Dum. répand une odeur d'eau stagnante et sa saveur est très amère. Les corps oléiformes donnent les réactions des essences et du tannin.

A la distillation de cette plante, nous avons recueilli de l'essence, colorée en jaune.

2° *Marchantia polymorpha* L. fut étudiée par LOHMANN. Elle dégage une odeur peu pénétrante. Couper un morceau de thalle, le placer sur la langue, c'est la façon d'éprouver une saveur désagréable, amère, brûlante. La distillation de 100 grammes de plante sèche en présence d'eau donne 0 gr. 5 d'essence. Celle-ci est épaisse, incolore. Son poids spécifique est proche de celui de l'eau. Son odeur n'est pas très pénétrante, elle ressemble à celle de la mousse fraîche. Sa saveur est amère. Exposée à l'air, cette essence se modifie tardivement, s'épaissit et brunit. L'étude de sa composition chimique

permet d'exclure la présence du soufre et de l'azote dans sa constitution moléculaire. D'après les résultats de la combustion, sa composition centésimale peut s'écrire ainsi: $C = 76,31$; $H = 9,80$; $O = 13,89$.

Dans ses corps oléiformes, nous avons mis en évidence la présence du tannin.

3° *Fegatella conica* Corda, fit aussi l'objet de l'observation de LOHMANN. L'odeur de cette plante fraîche « rappelle celle du terpène », écrit LOHMANN. Son goût est amer. A la distillation en présence d'eau, cette plante donne une huile essentielle d'une couleur jaunâtre. Elle est très fluide. Son odeur est proche de celle de la plante fraîche et sa saveur piquante. Son poids spécifique est plus petit que celui de l'essence de *Marchantia polymorpha*. Au tournesol elle est alcaline.

A la combustion, l'analyse permet de trouver les quantités suivantes de corps simples: $C = 78,65$; $H = 9,87$; $O = 11,48$. Elle est plus riche en oxygène que celle de *Marchantia polymorpha*. Se basant sur les rapports donnés par la constitution anatomique et la réaction du brome-permanganate de potassium, LOHMANN pense que la nature terpénique de cette essence est très vraisemblable.

Nous avons recherché les caractères microchimiques des essences dans les corps oléiformes et nous les y avons trouvés. Ces corps réfringents se trouvent en suspension dans une solution faible de tannin. N'est-ce pas ce corps qui fournit à LOHMANN les réactions qu'il cite comme spécifique de cette essence: précipité blanc avec une solution de sublimé, précipité brun avec le perchlorure de fer? Nous pensons que le tannin, dont les sels de fer sont le réactif caractéristique, devait intervenir mélangé à l'essence.

III. — HÉPATIQUES ÉTRANGÈRES A NOTRE RÉGION

Dans les annales de Botanique, nous avons relevé quelques analyses concernant des plantes étrangères à notre région. Les analyses exécutées par les savants allemands apportent une contribution à l'étude des essences chez les Hépatiques. Nous ne retiendrons que les résultats acquis par LOHMANN et Karl MULLER, qui publièrent des faits précis et des chiffres.

1° *Madotheca laevigata* Schrad. fut étudiée par Karl MULLER. A la distillation de cette plante, passe une huile fluide dont l'odeur est forte et la saveur âcre. Il obtint 0 gr. 9 d'essence pour 100 gr. de plantes sèches. Cette essence jaune orangée, a un poids spécifique égal à 0 gr. 856 et agit sur la lumière polarisée: $\alpha_D = + 73^\circ 4$. Sous l'action du mélange: acide acétique et acide sulfurique concentré, l'essence prend une couleur rouge sombre. L'analyse quantitative révéla la composition suivante: C = 80,43 % ; H = 12,49 ; O = 7,08. MULLER soumit cette essence à la distillation fractionnée. Il obtint deux fractions: une première qui passe à 100° et dévie la lumière polarisée à droite de $+ 10^\circ 54$, une deuxième fraction qui passe entre 150° et 160° . Celle-ci possède un poids spécifique de 0 gr. 968 et dévie la lumière polarisée à droite de $+ 132,23$; 22 % de ce produit est formé par un alcool.

2° *Mastigobryum trilobatum* Nees fut étudiée par LOHMANN et Karl MULLER. Cette plante ne dégage pas d'odeur et sa saveur est faible. Elle contient une masse importante d'huile essentielle: 0 gr. 9 % de substance sèche. Cette essence épaisse et blanche dégage, selon Moos, une odeur de camphre; selon GILDMEISTER, une odeur ressemblant à celle de l'huile de cèdre. Sa saveur camphrée est un peu amère. A — 20° C.

elle ne présente aucune cristallisation partielle. Elle se volatilise et s'altère à l'air. A 100° C., pendant quelques secondes, toute l'essence est évaporée. L'huile essentielle fraîche présente une faible réaction acide au tournesol. Comme il faut à peine 0 cc. 5 de lessive de potasse pour obtenir une réaction alcaline, la substance ne contient donc pas beaucoup d'acide. Cette essence jaune orangée possède les propriétés physiques suivantes. Le poids spécifique moyen à 16° est de 0,972 d'après LOHMANN, entre 0,947 et 0,975 d'après MULLER. Elle dévie la lumière polarisée à droite de $+ 1,21$ (LOHMANN) ou $+ 13,46$ (MULLER). Ses propriétés chimiques permettent d'éliminer la présence d'azote d'après LASSAIGNE et de soufre, d'après SCHÖM. En brûlant cette essence, les auteurs trouvèrent la composition centésimale suivante : C = 82,77 ; H = 11,19 ; O = 6,04. A la distillation fractionnée, passent deux fractions : une première entre 260° et 265° qui fait tourner la lumière polarisée de $+ 25,95$ à droite et une deuxième fraction entre 270° et 283° qui fait tourner à droite la lumière polarisée de $+ 42^{\circ}21$ et serait probablement constituée par un hydrocarbure saturé. Le mélange d'acide acétique et d'acide sulfurique concentré donne une coloration rouge vin. Avec le brome, en présence d'alcool absolu et d'éther, LOHMANN obtint un produit blanc pâle, fluide et épais qui prit une couleur bleu pâle, puis brun rouge. LOHMANN le considère composé par un sesquiterpène en $C^{15}H^{24}$ et une substance camphrée en $C^{12}H^{20}O$. Cette essence ressemble à celle du santal et du cèdre.

Au point de vue microchimique, les corps oléiformes nous montrèrent les propriétés physiques et chimiques des essences. En outre, dans les cellules, nous avons reconnu la présence de tannin, localisé dans les corps oléiformes.

3° *Leioscyphus Taylora* Hook renferme des corps oléiformes caractérisés comme globules d'essence. Karl MULLER en a extrait une huile essentielle. Elle est produite dans la proportion de 1 gr. 6 pour 100 grammes de plantes sèches. Son odeur est forte et sa saveur désagréable. Sa couleur est bleu vert, son poids spécifique est de 0 gr. 986. Elle dévie la lumière polarisée à gauche de — 3°44. Avec le mélange acide acétique et acide sulfurique concentré, se produisait une coloration rouge framboise. Soumettant cette essence à la combustion, MULLER put en établir la composition centésimale suivante : C = 84,18 ; H = 11,73 ; O = 4,21. La distillation fractionnée de cette essence montre trois fractions : une première passe entre 260° et 265°, a un poids spécifique de 0,937 et pourrait s'écrire $C^{15}H^{20}O$; une deuxième fraction passe entre 265° et 278° et serait probablement un carbure d'hydrogène ; une troisième fraction passe entre 280° et 290° et répondrait à la formule $C^{15}H^{20}O$, mais dévie la lumière polarisée à droite de + 26,88.

4° *Alicularia scalaris* Corda fournit une essence jaunâtre. Karl MULLER indique un poids spécifique égal à 0,965 et une déviation de la lumière polarisée qui mesure — 33°49 sur la gauche. Avec le mélange acide acétique et acide sulfurique concentré, il obtint une coloration rouge framboise. Il brûla cette essence et en déduisit la composition centésimale suivante : C = 81,16 ; H = 11,71 ; O = 7,13.

5° *Fimbriaria Blumeana* fraîche laisse une odeur passablement forte. LOHMANN comparait celle-ci à l'odeur de citron et d'amine. Il en retira une essence dans la proportion de 0,1 pour 100 grammes de substance sèche. Cette essence est blanche et légère comme l'eau. Au tournesol, elle accuse une faible réaction alcaline. LOHMANN cite plusieurs réactions

qu'il considère comme importantes: le perchlorure de fer donne une réaction violette avec un trouble; une solution de sublimé, un trouble blanc. Avec le réactif de NESSLER, se produit un précipité rouge brique faible. Au contact d'une solution iodo-iodurée se fait un trouble sombre, mais aucune réaction d'iodoforme notable ne se décèle après l'action de la lessive de potasse.

Parmi ces réactions, les unes nous semblent indiquer la présence de tannin, quant aux autres, elles ne sont pas caractéristiques des essences. La distillation et les constantes physiques nous paraissent plus importantes à considérer pour définir cette essence.

3° PRODUITS A DISTINGUER DE L'ESSENCE ET DU TANNIN DES CORPS OLÉIFORMES

Nous avons établi d'une façon précise et nette la présence d'essence et de tannin chez les Hépatiques que nous avons étudiées. Et, certes, nous pourrions rejeter de prime abord les opinions autres et plus ou moins étranges sur la nature des corpuscules réfringents de ces Cryptogames vasculaires.

Cependant les théories émises, le furent sous l'égide de savants illustres. Aussi allons-nous rechercher la cause des divergences survenues entre leurs expériences et les nôtres. Cette critique ne pourra que consolider encore nos conclusions.

Nous étudierons successivement les produits que certains auteurs ont confondu avec l'essence et le tannin des corps oléiformes.

A. — PRODUITS A DISTINGUER DE L'ESSENCE

a) *Amidon*. — Le premier observateur de ces corps réfringents, MIRBEL, en 1835, les considéra comme de l'amidon. Cette opinion tombe immédiatement devant les réactions négatives que nous avons obtenues en recherchant les caractères de l'amidon dans les corps oléiformes : point de coloration bleue avec une solution iodo-iodurée, pas de caractères physiques, absence des réactions chimiques spécifiques.

b) *Cire*. — S'agit-il de résine ou de cire comme le pensait GOTTSCHÉ en 1843 ? Distinguer résine et essence nous paraît ici très difficile. Dans certaines plantes comme le *Radula complanata*, où nous avons pu mener l'étude de l'essence assez loin, il nous semble que la nature d'essence des corps oléiformes est manifeste. La coloration du corps oléiforme en bleu par la cyanine ou le bleu de quinoléine, la distillation avec la vapeur d'eau, l'allure fluide du distillat, nous portent à considérer son contenu plutôt comme une huile essentielle. Ces corps sont trop voisins au point de vue chimique pour que nous puissions établir entre eux une différence bien tranchée, à l'heure actuelle.

c) *Inuline*. — Une autre opinion encore retiendra quelques instants seulement notre attention. C'est celle de SCHACHT qui, en 1856, parlait d'inuline, à propos des corps oléiformes des Hépatiques. Il avait obtenu une faible coloration brune de ces corps réfringents, en présence d'iode. Dédire la nature d'un corps à la suite d'une réaction de coloration, nous paraît une conclusion vraiment téméraire.

Nous avons voulu vérifier cette assertion. En lumière polarisée, la biréfringence que produisent les sphéro-cristaux d'inuline ne se produit pas avec les corps oléiformes. Ceux-ci

ne présentait point à l'observation, la morphologie des sphéro-cristaux d'inuline soit sur le frais, soit après un séjour dans l'alcool. Outre ces propriétés optiques négatives, voyons les réactions chimiques. L'acide sulfurique concentré solubilise entièrement l'inuline, les corps oléiformes eux y résistent. Deux autres réactions chimiques sont caractéristiques de l'inuline, ce sont : 1° la réaction de MOLISCH et 2° la réaction de GREEN. Ni l'une ni l'autre ne nous démontrèrent la présence d'inuline dans les corps oléiformes des diverses Hépatiques que nous avons étudiées.

d) *Graisse*. — Enfin nous arrivons à la théorie de PFEFFER qui considère les corps oléiformes comme une émulsion de globules graisseux. Ce sont des huiles grasses, mélangées avec un peu de substance protéique et d'eau. Non volatiles, elles présentent les caractères physico-chimiques des corps gras. Cette opinion fut suivie et défendue par les élèves de PFEFFER, principalement par WAKKER. C'est aussi l'opinion classique, c'est elle du moins que répètent tous les traités classiques de Botanique. En 1921 même, KOZLOWSKI la reprend.

Pour réfuter cette hypothèse, nous rechercherons la présence de la graisse chez les Hépatiques étudiées, puis nous rappellerons que le corps oléiforme n'est pas composé de matière grasse mais d'essence et que la localisation cellulaire de ces deux substances se trouve en des endroits différents :

α) *Présence de graisse*. — PFEFFER avait extrait une certaine quantité de graisse des feuilles du *Mastigobryum trilobatum*. Mais ce savant ne donna pas d'autres détails, attribuant aux corps oléiformes le corps gras qu'il avait extrait.

JÖNSSON et OLIN les premiers déterminèrent avec précision la quantité d'huile grasse contenue chez certaines Hépatiques. Leur thèse : « Der Fettgehalt der Moose » contient les résul-

tats de leurs travaux. Plus tard, LOHMANN reprit cette question et apporta quelques précisions nouvelles.

Nous avons renouvelé ces recherches chez les Hépatiques de notre région. Nous étudierons : 1° le *Radula complanata* avec détails parce qu'il n'avait pas encore été soumis à cette analyse et que nous indiquons la méthode suivie ; 2° quelques autres Hépatiques dont nous avons déjà extrait l'essence.

1° *Radula complanata*

Utilisons, pour cet examen chimique, les produits de la distillation exécutée en présence d'eau, au cours de nos recherches sur l'essence : le distillat et le résidu de la distillation.

a) *Le distillat.* — Dans le distillat existe-t-il des corps gras ? Nous devons écarter cette hypothèse par le seul fait que les corps gras, étant fixes, tout comme les résines d'ailleurs, ne sont pas entraînés par la vapeur d'eau. Ils resteraient donc dans le résidu de la distillation.

Les corps gras, d'origine végétale, contiennent il est vrai, toujours des acides gras libres, mais à l'état de traces seulement. Il est en outre impossible qu'il s'agisse ici d'acide gras, entraînés par la vapeur d'eau et provenant de la démolition d'un corps gras puisque la distillation s'est opérée à une température de 98° C. et qu'à cette température un corps gras reste fixe.

Des acides organiques s'engendrent aussi par l'action de la chaleur. C'est ainsi que l'acide acétique se forme dans la distillation de presque tous les corps neutres et de plusieurs acides organiques.

Dans tous les cas, en admettant que les produits acides, quels qu'ils soient, entrent en faible quantité dans la compo-

sition du liquide à examiner et lui donnent sa légère acidité à la phénolphthaléine, il n'en reste pas moins vrai que le produit contient autre chose que des produits acides, acides gras ou autres. Ce qui, d'ailleurs est démontré de la façon suivante.

Nous opérons sur le distillat brut obtenu à la sortie de l'alambic. Nous le neutralisons exactement par la potasse déci-normale, en présence de phtaléine, comme réactif indicateur : tous les produits acides sans exception sont touchés par la potasse. Epuisons le liquide ainsi neutralisé par une quantité convenable d'éther sulfurique que nous recueillons dans un cristalliseur. Evaporons cet éther. Nous constatons alors qu'il reste, comme résidu de l'évaporation, des gouttelettes identiques en couleur et en odeur au liquide distillé.

Nous pouvons donc conclure que des produits acides entrent en minime quantité dans la composition du produit de distillation. Celui-ci renferme en grande quantité, au contraire, des gouttelettes d'essence dont nous avons précédemment analysé les caractères.

b) Voyons le résidu de la distillation. Les corps gras non volatils, c'est ici que nous devons les trouver.

Nous filtrons le résidu de la distillation. Le filtrat et l'Hépatique résiduelle qui est resté sur le filtre sont séchés à l'étuve à + 30°, pendant trois heures. Le tout est ensuite lixivé au soxhlet, pendant deux heures avec une quantité convenable d'éther de pétrole. Nous distillons l'éther de pétrole qui a dissous le corps gras, s'il en existe un. Le résidu de cette distillation est ensuite porté à l'étuve à + 100° pour éliminer les traces du dissolvant et soumis à la saponification.

Pour éviter l'action de la potasse sur le verre et celle du CO^2 sur la potasse, nous opérons en double, c'est-à-dire avec une opération en blanc. Nous nous servons de deux fioles

coniques de 100^{cc} de même verre et de même forme. Dans la première, A, nous mettons 5 cc. de la solution de potasse à huit pour cent, dans l'alcool à 90° et 5^{cc} du résidu à examiner et susceptible d'être, ou de contenir, un corps gras. Dans la seconde fiole B, nous mettons 5^{cc} de la solution de potasse à huit pour cent dans l'alcool à 90°.

Nous portons le tout au bain-marie, avec réfrigérant ascendant, pendant trente minutes. Après ce temps, nous refroidissons vers 30° à 40° et nous titrons directement la potasse en excès dans chaque fiole conique avec l'acide chlorhydrique demi-normale, en présence de la phtaléine, comme indicateur.

Le calcul donne comme indice de saponification, c'est-à-dire le nombre de milligrammes de potasse nécessaires pour saponifier un gramme de matière grasse, le chiffre de 45.

Après avoir pris l'indice de saponification, prenons maintenant l'indice d'acide, ou nombre de milligrammes de potasse, nécessaires pour neutraliser les acides gras libres dans un gramme de corps gras.

Pour le résidu dont nous nous occupons ici et qui représente le résidu, obtenu en épuisant la plante à l'éther (il s'agit ici de la plante dans le résidu de la distillation) l'indice d'acide est de 28.

La différence entre l'indice de saponification (45) et l'indice d'acide (28) représente l'indice d'éther, ou nombre de milligrammes de potasse, nécessaires pour saponifier les glycérides.

Attendu que l'indice de saponification est voisin, à peu de chose près, de l'indice d'acide, il paraît assez logique de soupçonner des traces d'un corps saponifiable et une très légère acidité, exigeant par gramme de produit $45 - 28 = 17$ milligrammes de potasse.

2° Hépatiques des environs de Nancy

Madotheca platyphylla. — Après extraction par l'éther, la quantité de graisse trouvée est : 7,70 %.

Plagiochila asplenioides. — Après extraction par l'éther, la quantité est de 5,07 pour 100 gr. de substance sèche.

Pellia épiphylla. — Après extraction semblable, la quantité est de 3 %.

Metzgeria furcata donne 2,8 %.

Marchantia polymorpha donne 4,3 %.

Fegatella conica donne 2,3 %.

3° Hépatiques des régions voisines

Jungermania barbata fournit 9,83 de graisse pour cent de substance sèche après extraction par l'éther.

Madotheca rivularis fournit 5,7 %.

Fimbraria Blumeana fournit 3,6 %.

Mastigobryum trilobatum fournit 4 %.

En général ces graisses présentent un point de fusion bas et un poids spécifique faible.

Toute cette substance grasse, selon l'école de PFEFFER, constituait la plus grande partie des corps oléiformes des Hépatiques.

En nous basant sur nos observations précédentes, nous pouvons affirmer que :

β) *Le corps oléiforme ne contient pas de corps gras.*

En effet, au point de vue microscopique, nous avons montré les caractères physiques et chimiques des corps oléiformes. En aucune façon, ceux-ci ne ressemblent à des corps gras.

La plus importante de leurs propriétés physiques : la volati-

ité, fut mise en doute par PFEFFER. « Cette huile grasse, écrivit ce savant, montre une grande ressemblance avec les huiles éthérées dont elle se distingue par le non-volatilité ». Notre expérimentation détruisit cette dernière affirmation. Le contenu des corps oléiformes, étant volatil, il n'y a plus d'obstacle à leur reconnaître une nature d'huile essentielle.

L'analyse microchimique ne nous apporta pas de preuves nouvelles en faveur de la nature oléagineuse des corps oléiformes. S'ils brunissent sous l'action de l'acide osmique, ils ne résistent pas aux liquides conservateurs des graisses.

Avec la méthode de DIÉTRICH, nous n'avons pas pu mettre en évidence des corps gras dans les corps oléiformes.

Nous avons aussi utilisé la méthode de BENDA modifiée par Mangenot, sans aucun succès.

Les résultats demeurent négatifs après l'examen des coupes traitées par les méthodes de CHAMPY et KULL-CHAMPY.

La méthode de FISCHLER donnant une teinte verte aux acides gras, ne nous en a point montrés dans les corps oléiformes des Hépatiques étudiées.

Toujours, le corps oléiforme apparaît, après les diverses manœuvres de l'inclusion, comme une vacuole vide dont le produit, huile essentielle, s'est trouvé dissous par les passages dans les divers hydrocarbures.

Ces vacuoles représentent un certain volume qui n'est pas en proportion de la quantité de graisse extraite. Tantôt nous trouvons peu de graisse et un gros corps oléiforme, tel est le cas du *Radula complanata*; tantôt beaucoup de graisse et des corps oléiformes de petites tailles ou peu nombreux. Ainsi *Metzgeria furcata*, qui possède des corps oléiformes extrêmement petits — longtemps passés inaperçus — contient plus de graisse brute que *Fegatella conica*. *Mastigobryum trilobatum*

qui montre de très gros corps oléiformes, dans chaque cellule, contient un peu moins de graisse brute que *Marchantia polymorpha* où les corps oléiformes apparaissent clairsemés.

Ces divergences dans l'espace, nous les suivons dans le temps.

Les divers expérimentateurs trouvèrent des différences dans le contenu en graisse des Hépatiques selon le temps de la récolte, le lieu et la vieillesse de la plante. Les Hépatiques sont plus riches en graisse au printemps et en automne qu'en été; celles qui poussent sur les endroits secs possèdent plus de corps gras que celles qui végètent en lieux humides. Dans les vieilles parties de ces plantes, les graisses seraient plus abondantes que dans les jeunes.

Le contenu des Hépatiques en matière grasse semble marcher en rapport avec le contenu cellulaire en azote. Aussi les auteurs présument que les graisses naîtraient de la transformation des matières albuminoïdes.

Alors la graisse apparaît comme une substance plastique. Beaucoup moins vite transformée que l'amidon pour les besoins cellulaires, la graisse se montre comme une substance de réserve pour les moments difficiles de l'existence.

Comparant ces fluctuations à celles des corps oléiformes, nous sommes frappé de la différence d'état. La graisse varie avec les circonstances extérieures, le corps oléiforme demeure invariable. La graisse augmente dans les vieilles parties des plantes, ici le corps oléiforme se désagrège peu à peu pour en disparaître.

L'antagonisme entre les matières grasses et les corps oléiformes est manifeste. Entre les deux, il n'existe aucune identité, ce sont deux substances différentes de nature. Le corps oléiforme ne contient pas de substance grasse.

γ) *Le corps oléiforme est composé de globules d'essence.* — Cette affirmation, c'est la conclusion de notre étude précédente sur les propriétés physiques et chimiques des corps oléiformes. Ceux-ci et l'essence, qui les constitue évoluent selon un mode semblable dans l'espace et le temps.

Ainsi l'essence se trouve localisée dans le corps oléiforme, infirmant la phrase de PFEFFER: « Rien ne nous prouve que : huiles essentielles se trouveraient forcément dans les corps oléiformes. »

La présence de ces corps oléiformes et partant de l'essence, nous l'avons constatée chez toutes nos Hépatiques. C'est donc un fait général et non pas « éventuel », ainsi que l'écrivait PFEFFER.

Mais alors, où se localise la graisse que nous avons extraite?

δ) *La graisse se trouve sous forme de petites inclusions protoplasmiques.* — Examinons une feuille de *Radula complanata*, nous voyons des petits grains réfringents, les uns parsemés dans le protoplasme, les autres accolés à la membrane ou aux chloroplastes (fig. 5, pl. VI).

Sous l'action des réactions spécifiques, ces granules témoignent de leur nature grasseuse.

Sur les coupes, fixées au Champy, ils sont colorés en noir, alors que les globules du corps oléiforme ont disparu.

Au cours de l'évolution cellulaire, ils semblent naître au contact des chloroplastes, dont ils s'éloignent quand ils ont acquis un certain volume. Nous ne voyons pas ces petites granulations s'accoler au corps oléiforme et y pénétrer, contrairement à l'opinion de KOZLOWSKI.

Leur nombre augmente ou diminue selon les saisons et les circonstances.

C'est ainsi que se constitue la réserve de matière grasse.

La graisse et l'essence sont deux produits de l'activité cellulaire. Ils sont constants chez les Hépatiques et très différents l'un de l'autre par leurs propriétés physico-chimiques et biologiques. Chacun trouve dans l'économie cellulaire une place bien marquée: l'essence sous forme de corps oléiforme, la graisse, d'inclusions protoplasmiques.

B. — PRODUITS A DISTINGUER DU TANNIN

Dans les corps oléiformes, nous avons mis en évidence la présence de tannin. Celle-ci fut démontrée par les propriétés physico-chimiques des solutions et les examens cytologiques tels que nous les avons rapportés dans les chapitres précédents.

Malgré ces faits nettement établis, nous voulons répondre à deux objections. Elaguant celles-ci nous fortifierons notre opinion.

a) Cette coloration brune que nous attribuons à du tannin, n'est-elle point due à la présence de pigments anthocyaniques et à des phlobotannins?

A travers la controverse élevée entre ST. JONESCO et R. COMBES, nous avons choisi les procédés de recherche établis avec précision par R. COMBES. Nous avons essayé de mettre en évidence et d'isoler :

1° *Des phlobotannins.* — Nous avons fait macérer des feuilles de *Radula complanata*, pendant cinq heures, dans l'acétone. Nous avons filtré et ajouté au liquide trois volumes d'éther. Si nous avions eu affaire à des phlobotannins, nous aurions vu un précipité hydro-alcoolique de phlobotannin; nous n'avons rien aperçu dans le liquide, donc il n'existe point de phlobotannins.

Pour éliminer toute cause d'erreur, nous avons continué la série des opérations indiquées par COMBES et recherché sur le liquide final les réactions spécifiques. Nous n'avons pu les mettre en évidence.

Au lieu de la plante fraîche, nous avons utilisé le résidu du distillat. Nos recherches ne nous apportèrent aucun élément nouveau, permettant de penser à la présence des phlobotannins.

La coloration brune ne peut être attribuée à des phlobotannins.

2° *Des pigments anthocyaniques.* — Ceux-ci ne se trouvaient pas mélangés aux phlobotannins, puisque nous n'avons pu mettre ces corps en évidence. Et du reste, le liquide obtenu en fin de recherche des phlobotannins, mélangé avec l'alcool amylique et chauffé en présence d'acide chlorhydrique, ne produit pas de coloration rouge.

L'emploi de la méthode de WILSTATTER et ZOLLINGER, ne nous montre aucun picrate cristallisé et ne nous a pas permis d'isoler une pseudo-base d'anthocyanidine.

Après ces diverses expériences, nous pouvons confirmer la nature tannique du composé brun jaune, recueilli dans le résidu du distillat.

b) Mais ce tannin d'où vient-il? De la cellule ou du dehors? Et voici la seconde objection possible: ce tannin ne provient-il pas des écorces d'arbres où végètent les Hépatiques?

Dans nos bois, où poussent surtout le Hêtre (forêt de Haye), c'est sur cet arbre que nous avons recueilli la plupart des feuilles de *Radula complanata*. Or, dans l'écorce de cet arbre, se trouve un liège dont les cellules renferment beaucoup de cérine. Ce corps gras isole ainsi l'Hépatique des cellules profondes de l'écorce.

Et celle-ci contient-elle beaucoup de tannin? Nous avons prélevé à divers endroits des morceaux d'écorce de Hêtre et nous les avons mis à macérer et à bouillir avec de l'eau. Si l'écorce contenait du tannin, l'eau devait se colorer et présenter les réactions du tannin. L'eau resta incolore et transparente et ne révéla aucune trace de tannin, tandis que, dans des conditions semblables, le *Radula complanata* fournissait une belle coloration jaune brun et toutes les réactions des tannoïdes.

Et puis, l'écorce n'est point l'unique support de cette Hépatique. Nous l'avons rencontrée sur la terre, la pierre et toutes sortes d'arbres et d'arbustes.

Quant aux autres Hépatiques, certaines ne s'élèvent jamais sur les arbres comme *Plagiochila asplenoides* ou les *Marchantiacées*, vivant sur la terre ou la pierre, en lieux humides ou dans l'eau. Parler de l'influence du support ne nous paraît pas logique. Il faut abandonner l'idée d'une imbibition des cellules par une substance étrangère.

La couleur brune, décelée dans tous les résidus de distillation des Hépatiques étudiées, possède tous les caractères d'un tannin et celui-ci ne tire point son origine hors la plante, mais naît dans la cellule.

Dans les chapitres précédents, nous avons montré la situation cellulaire de ce composé brun et nous l'avons trouvé plus ou moins abondant dans tous les corps oléiformes.

4° CONCLUSIONS

1° De ce tannin comme de cette essence, nous en avons établi, avec précision, les propriétés au travers des recherches microscopiques et macroscopiques.

2° Ces deux composés chimiques nous les avons retrouvés d'une façon constante chez les diverses Hépatiques de notre région, Hépatiques qui appartiennent à de nombreuses familles de l'ordre et végètent en les lieux les plus divers. Il ne s'agit point d'une simple coïncidence, mais d'une coïncidence constante, multipliée et variée.

3° La localisation des globules d'essence dans les corps oléiformes avec du tannin, nous permet de rejeter le nom d' « ælkörper » et de le remplacer par celui de vacuole à essence.

CHAPITRE III

CYCLE ONTOGÉNÉTIQUE DES CORPS OLÉIFORMES

(Origine, développement, apogée, déclin, mort)

Cette vacuole à essence nous l'avons décrite au moment où la cellule était adulte. Etudions maintenant de quelle façon elle naît, se développe et meurt.

1° Origine des substances constituées

Le corps oléiforme étant une vacuole à globules d'essence en suspension dans une **solution de tannin**, nous devons rechercher l'origine de ces deux substances.

1° HISTORIQUE

PFEFFER écrivait que les corps oléiformes naissent en des régions déterminées du liquide cellulaire à partir de gouttelettes oléagineuses.

L'observation de deux Hépatiques : *Scapania* et *Radula*, montra à WAKKER l'apparition soudaine dans le cytoplasme d'organes tubulaires bien limités. Dans ceux-ci, les globules d'huile ne seraient pas visibles au début. Peu à peu ils se

formeraient et augmenteraient de nombre, par division. Quant à la vraie nature de ces corps oléiformes, elle serait de nature plastique : ce sont des élaïoplastes. Elaioplastes qui tiendraient eux-mêmes leur origine dans les plastes chlorophylliens métamorphosés.

Toujours imbu de l'idée d'un stroma à allure protéique, qui ne peut être fixé et se partager, Von KUSTER pensait que ce stroma naissait comme une formation irrégulière, dans laquelle, plus tard, nageaient des gouttelettes oléagineuses.

HIÉRONYMUS vit les corps oléiformes entourés d'une enveloppe protoplasmique, près des chloroplastes.

Pour LOHMANN, les corps oléiformes se formaient dans les toutes jeunes parties des plantes. Ils seraient formés par un stroma où apparaîtraient les gouttelettes.

GARJEANNE observa les premiers stades des corps oléiformes sous la forme de petites vacuoles où étaient précipitées des gouttelettes. A ce moment, ils ne se coloraient pas par l'acide osmique. Toujours les jeunes corps oléiformes se groupaient autour du noyau. A côté des corps oléiformes définis, se trouvaient des vacuoles, 3 à 5, qui, selon GARJEANNE, représentaient les futurs corps oléiformes.

MULLER constata la situation des corps oléiformes près des grains de chlorophylle, au début du développement des feuilles.

Enfin KOZLOWSKI décrivit, le 19 septembre 1921, dans une note à l'Académie des Sciences, l'origine des corps oléiformes. Ils se formeraient par amas de gouttelettes graisseuses qui proviendraient des chloroplastes.

2° DISCUSSION DES THÉORIES

A. — *Théories sur l'origine des corps oléiformes.* — Toutes ces opinions sont contradictoires. Certains auteurs constatent purement et simplement la présence des corps oléiformes à l'état de stroma ou de vacuole dans telle région du cytoplasme, mais n'indiquent pas leur mode d'apparition, d'autres leur attribuent une origine aux dépens des chloroplastes.

a) *De stroma protéique*, il ne peut en être question. Nous en avons démontré l'absence.

b) *Quant à l'état vacuolaire*, tel que le conçoit GARJEANNE, nous ne l'avons pas observé. Cet auteur représente, chez *Radula complanata*, des formations vacuolaires entourées d'un tonoplaste et sans globules réfringents. Ceux-ci apparaîtraient progressivement dans la vacuole centrale. Soit après colorations vitales, soit après colorations des coupes fixées, jamais nous n'avons constaté de tonoplaste et deux systèmes vacuolaires distincts. Les vacuoles, au stade où GARJEANNE les dessine, renfermaient des globules d'essence et du tannin.

c) Quelques auteurs considérèrent les *chloroplastes comme origine des corps oléiformes*. Certains, après WAKKER, regardèrent ceux-ci comme des chloroplastes métamorphosés, d'autres, après KOZLOWSKI, comme des sécrétions des chloroplastes.

Pour vérifier cette hypothèse, nous avons suivi l'évolution des chloroplastes chez plusieurs Hépatiques à feuilles et à thalle. Nous avons fait des examens sur le vivant et sur les coupes fixées.

α *Examens sur le vivant: Hépatiques à feuilles.* — Dans les feuilles de *Radula complanata*, montées dans l'eau ordinaire

entre lame et lamelle, recherchons les cellules du pôle végétatif. Dans les jeunes cellules, nous voyons toujours au moins un chloroplaste. A mesure que les cellules se développent, les chloroplastes augmentent de nombre et de volume. A l'état adulte se trouve réalisé un certain nombre de chloroplastes qui ne varient pas pendant un certain temps. Puis vient le déclin et la mort de la cellule où les chloroplastes se décolorent et se détruisent avec les autres substances du cytoplasme.

Contre les chloroplastes, se forment, pendant la vie cellulaire, des granules réfringents qui quittent le contact des plastes quand ils ont atteint un certain développement. Nous les voyons parsemés dans le cytoplasme et le long de la membrane. Sous l'action des colorants et des réactifs, leur nature graisseuse se révèle (fig. 3, 8, 9, 10, 11, pl. VI; fig. 1 à 6, pl. IX).

Aucun autre phénomène n'attire l'attention dans la suite du développement du chloroplaste.

Hépatiques à thalle. — Chez deux Hépatiques à thalle : *Lunularia cruciata* et *Marchantia polymorpha*, nous avons observé des phénomènes semblables. Mais ici les chloroplastes se flétrissent rapidement sous la poussée du corps oléiforme (fig. 10, 9, pl. IX).

β *Examens après fixation.* — Nous avons contrôlé ces faits par l'étude des préparations fixées et colorées. Les fixateurs employés furent les mélanges de CHAMPY et de REGAUD; les colorants, l'hématoxyline ferrique ou la fuchsine acide.

Dans les cellules embryonnaires du sommet végétatif, nous avons observé l'évolution des chloroplastes. Toujours, dans les jeunes cellules, nous voyons un plaste en forme de grain ou de court bâtonnet à centre clair, comme un bacille bipolaire. Cette dernière forme, représente probablement un ins-

tant de la division des plastes. A leur contact apparaissent des petits granules grasseyeux que nous retrouvons aussi dans le protoplasme (fig. 1 à 6, 8, 9, pl. VIII).

Ces faits sont particulièrement nets dans les cellules du *Radula complanata*.

Ainsi, durant l'évolution cellulaire, la lignée chloroplastique se conserve et se détruit intégralement sans se métamorphoser en d'autres substances.

Les plastes chlorophylliens sécrètent-ils des corps oléiformes? Nous n'avons pas vu ce phénomène. Mais auprès des plastes naissent, peut-être, sous leur influence, des globules grasseyeux. Voyant ceux-ci et les petits globules réfringents de certains corps oléiformes dans une cellule de *Radula complanata*, l'esprit peut être tenté d'y chercher un rapprochement. Et de ceci à créer la « conception » de KOZŁOWSKI, il n'y a qu'un pas.

Peut-être, un phénomène d'optique analogue, a-t-il conduit WAKKER à voir les chloroplastes évoluer en élaïoplastes.

En tout cas, parmi ces granules entourant les chloroplastes, aucun ne ressemble aux corps oléiformes même très petits.

Les corps oléiformes ne reconnaissent donc pas comme origine l'une quelconque de ces sources.

B. — *Théories sur l'origine de l'essence et du tannin.* — Quelle est donc l'origine des corps oléiformes? Parler ainsi, c'est mal poser la question. Nous avons démontré que les corps oléiformes contenaient des globules d'essence en suspension dans une solution de tannoides. La recherche de l'origine des corps oléiformes revient à poser le problème de l'origine des essences et du tannin.

Comment les auteurs ont-ils résolu ce problème? De façons

variées. Voyons ces hypothèses diverses et tentons de les appliquer aux Hépatiques étudiées.

1° WILKE, en 1883, constatait l'abondance des matières tannantes au voisinage des réservoirs à sécrétion et, de ceci, concluait à la *formation des essences aux dépens des tannins* et des matières tannoïde.

Dans la cellule des Hépatiques, la transformation du tannin en essence, nous ne l'avons point observée. Ces deux substances paraissent naître et évoluer simultanément, sans transmutation.

2° Pour expliquer ces modifications, BIERMANN en 1896, TSCHIRCH et BIERMANN en 1898, admettaient la *présence d'une couche résinogène*, formée par la fusion intime de la partie interne de la membrane et de la couche périphérique du protoplasme. Ce nouvel organisme puiserait les éléments de synthèse dans les hémicelluloses, et sécréterait dans le protoplasme l'huile essentielle. Nos observations ne nous ont pas permis de mettre en évidence cette couche sécrétrice d'essence. Dans l'intérieur des corps oléiformes, nous ne voyons pas apparaître le tannin d'abord, puis l'essence, mais ces deux substances semblent naître ensemble. Chez les Hépatiques, l'absence de couche résinogène anéantit cette hypothèse.

3° D'autres éléments cellulaires attirèrent l'attention des observateurs : tel le *parenchyme chlorophyllien*. Il serait le siège de formation des essences, selon LALOUÉ, BLONDEL et MESNARD. Ce savant, en se basant sur certaines réactions chimiques, considère les matières odorantes comme des produits d'usure de la chlorophylle, dont la série de désassimilation serait la suivante : chlorophylle — composés tannoïdes intermédiaires — baume — résine — huiles essentielles.

A l'heure actuelle, l'emploi des réactions microchimiques

ne décèle pas les divers chaînons de cette série hypothétique. Il est vrai que nous avons toujours trouvé les essences dans les cellules à chloroplastes. DUFRENOY avait déjà remarqué chez les pins, une concordance analogue entre les résines et les chloroleucites. Mais jamais nous n'avons vu la genèse des essences aux dépens des chloroplastes.

4° Ceux-ci ne formeraient pas directement les essences, pour CHARABOT et GATIN, mais donneraient naissance à un glucoside qui, sous un *ferment hydrolisant*, placé dans le protoplasme, se transformerait en essence et glucose.

C'est une hypothèse sur laquelle ces auteurs brodèrent des explications plausibles. Chez les Hépatiques, le ferment hydrolisant, nous ne l'avons point rencontré dans le protoplasme, quant au glucoside, les réactifs chimiques ne le décelèrent pas.

5° WIESNER pensait que la *désintégration des hydrates de carbone* aboutissait à des radicaux terpènes et résènes. Cette transformation échappe à nos examens. En tous cas, les hydrates de carbone ne se trouvent pas en abondance dans les cellules qui donnent les corps oléiformes et, soupçonner ces combinaisons chimiques, ce n'est pas encore montrer le mécanisme de ces transformations.

6° Au lieu de parler de ferment hydrolisant, POLITIS fait intervenir le *chondriome* dans la formation des essences dans les plantes. Selon cet auteur, les chondriocontes renfermeraient du tannin. « Avec l'âge, la quantité de ces composés augmente et le volume des vacuoles devient réfringent. Alors apparaissent les huiles essentielles. » Celles-ci proviendraient de la transformation du tannin sécrété par le chondriome.

Recherchons ces phénomènes chez les Hépatiques.

Les mitochondries des Hépatiques furent l'objet de travaux très anciens. SCHERRER, en 1913, observa l'*Anthoceros Hus-*

noti. MOTTIER, en 1918, l'*Anthoceros laevis* et le *Marchantia polymorpha*. Ces savants remarquèrent dans les cellules du sac embryonnaire du *Marchantia* des corpuscules en forme de grains et de bâtonnets auxquels ils réservèrent le nom de chondriosomes et des plastes bien caractérisés. Ces deux systèmes leur parurent complètement indépendants l'un de l'autre pendant tout le cycle évolutif.

En 1924, DANGEARD étudia le *Marchantia polymorpha*. Dans tous les organes de cette plante, il mit en évidence les trois formations indépendantes qu'il désigne sous le nom de vacuome, plastidome et cytome. Chez *Lunularia cruciata*, nous avons retrouvé ces différents éléments du cytoplasme.

Mais toutes ces observations ne font aucun cas des cellules à corps oléiforme. Voyons si, dans ces dernières, nous découvrirons quelque « chondrioconte » à la naissance du corps oléiforme.

Chez *Marchantia polymorpha*, parmi les cellules d'une extrémité végétative, certaines orientent très tôt leur activité vers la formation des corps oléiformes. Ces cellules ne se distinguent pas des autres par leur volume, mais par l'évolution différente des granulations ou des courts filaments chromatiques. Moins nombreux que dans la cellule normale, ils se transforment progressivement en chloroplastes. Ici, pas d'amyloplast. Le système vacuolaire renferme en certains endroits une substance réticulée, colorée par le bichromate, révélant la présence de tannoïdes. Le cytome est moins abondant que dans les autres cellules (fig. 9, pl. IX).

Quand le corps oléiforme occupe une situation importante dans la cellule adulte, le protoplasme, refoulé à la périphérie, contient encore quelques chloroplastes et sphérosomes.

Des faits semblables furent enregistrés chez *Lunularia cruciata* (fig. 10, pl. IX).

Ces phénomènes nous semblent réalisés avec une grande netteté chez *Radula complanata*. Cette plante renferme dans chacune de ses cellules un corps oléiforme et pas d'amidon. L'histoire des plastes se trouve ainsi réduite à celle des chloroplastes.

A l'intérieur d'une jeune cellule, autour du noyau, se trouve un sphéroplaste. Par suite d'une série de bipartition successive, il donne naissance à toute la série des chloroplastes de la cellule adulte. Dans le protoplasme se dessinent des vacuoles, en périphérie. Elles ne renferment en général pas de produits à caractères spéciaux, sauf certaines petites vacuoles dont le contenu apparaît un peu coloré en brun noir par la méthode de Champy-hématoxyline. Le cytome se retrouve dans le protoplasme, sous la forme de sphérosomes.

D'une façon progressive, la cellule se modifie et, arrivée à l'état adulte, elle ne nous montre plus qu'un corps oléiforme volumineux, entouré de chloroplastes dégénérés, serrés et logés, avec le noyau aplati, dans la petite bande de cytoplasme qui persiste contre la membrane.

Des chondriocontes de Politis, nous n'en n'avons pas trouvés chez nos Hépatiques. Cette formation chromatique n'existe pas et par conséquent n'intervient point dans la genèse du corps oléiforme. Quant au cytome, nous n'observons pas sa participation à l'élaboration des globules d'essence et du tannin.

7° Le rôle des *mitochondries* fut interprété d'une autre façon par M. et M^{me} Moreau, dans leur étude des phénomènes sécrétoires dans les glandes à lupuline. Ces auteurs soutien-

nent qu'il n'existe pas de relations entre les tannoïdes et les essences. Leurs observations sont plutôt favorables à une relation entre les essences et les résines d'une part, les lipoïdes d'autre part : « les mitochondries constituent un état figuré de substances sans individualité propre, et leur substance peut être engagée dans des réactions se terminant par la production d'essences et de résines ».

Cette théorie reçut sa critique. Dans une note publiée aux Comptes-rendus de l'Académie des Sciences, GUILLIERMOND et MANGENOT apportent des observations cytologiques sur le mode de formation des essences. Ils concluent que « ceux-ci (les chondriosomes) se présentent sous forme de grains, bâtonnets ou minces chondriocontes et persistent jusqu'à la dégénérescence des poils (poils sécréteurs des feuilles de noyer). Ils ne montrent aucun signe d'une participation à la sécrétion de l'essence ». Quant aux relations entre les tannoïdes et les essences ils les nient.

Les lipoïdes de ces auteurs représentent, en fait, les chondriocontes de GUILLIERMOND. Les Hépatiques ne possèdent pas cette formation. Les seuls éléments chromatiques, trouvés dans le protoplasme, font partie du cytome. Et nous avons démontré que celui-ci ne jouait aucun rôle dans la production des corps oléiformes.

3° HYPOTHÈSE

Parmi les corps figurés du protoplasme, nous avons éliminé le plastidome et le cytome, comme origines des corps oléiformes. Que reste-t-il ? *Le vacuome*.

Après les différentes observations que nous avons réalisées, de prime abord, cette conception nous paraît favorable. En

effet, nous avons démontré que les corps oléiformes 1° étaient des vacuoles à essence et tannoïdes et 2° représentaient le système vacuolaire de la cellule. Enfin nous connaissons l'origine des tanniins dans le vacuome depuis les travaux de MM. P.-A. et P. DANGEARD.

4° EXPÉRIENCES

Examinons donc l'évolution du système vacuolaire et cherchons-y la naissance des globules d'essence et des tannoïdes.

Nous considérerons d'abord les Hépatiques à feuilles puis les Hépatiques à thalle. Nous emploierons les colorations vitales et les colorations dites « mitochondriales » sur des coupes fixées.

1° Observation vitale

A. *Hépatiques à feuilles*. — Parmi les Hépatiques à feuilles, étudions, le *Radula complanata* et le *Plagiochila asplenioides*.

a) *Radula complanata*. — Pour connaître l'origine des vacuoles, dissociions le sommet végétatif d'une tige de *Radula complanata* et isolons les *cellules embryonnaires*.

1° *Cellules embryonnaires*. — Nous observons celles-ci sur le vivant, dans une goutte d'eau. Les cellules petites renferment 2 à 3 sphéropastes et 5 à 6 granules graisseux. Quelque fois 1 ou 2 sphérosomes s'agitent en tous sens. Ces divers éléments se trouvent dans le protoplasme qui semble translucide et homogène.

En utilisant l'*ultra-microscope* avec une source lumineuse électrique, nous voyons les mêmes détails. Si nous interposons un *écran de WOOD* sur le faisceau lumineux le protoplasme nous apparaît optiquement vide, à part les chloroplas-

tes colorés en rouge sépia. De ce fait, il ne faudrait pas conclure à l'absence de toute formation dans le cytoplasme réellement homogène. Ainsi que NAGEOTTE l'a bien montré par ses expériences « l'invisibilité d'une structure histologique à l'état vivant ne crée absolument aucune présomption contre la réalité de son existence ».

Plaçons alors ces cellules dans une goutte de la solution d'un *colorant vital*: bleu de crésyl brillant ou rouge neutre. Après 15 à 20 minutes, nous voyons se dessiner peu à peu les fines mailles d'un réseau assez lâche. Sur ces travées se trouvent échelonnés des globules réfringents. Les trabécules courent à la périphérie de la cellule et envoient entre eux quelques anastomoses. Si nous prolongeons l'observation nous voyons se colorer le noyau avec son gros nucléole. Il se trouve au milieu de ces filaments qu'il semble écarter (fig. 12, 13, pl. VI).

Ces colorants nous montrent un *caractère chimique du vacuome*: son alcalinité ou son acidité. Filaments et grains se teignent en violet avec le bleu de crésyl et en orangé avec le rouge neutre. Cette remarque est en faveur d'une réaction légèrement basique.

2° *Cellules jeunes*. — Examinons maintenant la *série des cellules*, issues du bourgeon végétatif, jusqu'au moment où nous reconnaitrons des corps oléiformes bien définis.

Sur le *vivant*, dans une goutte d'eau, nous voyons plusieurs rangées de cellules dont le volume augmente progressivement. Leur protoplasme semble homogène et ne montre que des sphérosomes et des granules graisseux, plus abondants que dans les cellules embryonnaires. Puis apparaissent des cellules contenant un ou plusieurs corps oléiformes (fig. 4, 5, 6, 7, pl. VI).

L'*ultra-microscope* nous montre les mêmes faits avec plus

d'éclat. Les rayons *ultra-violets* agissent comme précédemment, touchent les chloroplastes et laissent le protoplasme optiquement vide jusqu'à l'apparition des corps oléiformes qui présenteront une fluorescence rouge.

La *coloration vitale* devient nécessaire pour nous montrer les modifications du vacuome. Nous voyons alors les réseaux du système vacuolaire augmenter d'épaisseur (fig. 14, 15, pl. VI). A un moment, ou bien ils se fusionnent en une masse globulaire (fig. 10, pl. VI) ridée qui donnera le corps oléiforme unique des cellules des feuilles (fig. 11, pl. VI), ou bien ils se segmentent en plusieurs vacuoles dans les cellules du périanthe ou de la tige (fig. 6, 7, pl. VI).

C'est à ce stade que les *propriétés chimiques* du vacuome changent : la coloration violette, due au bleu de crésyl, commence à virer au bleu. Beaucoup de ces jeunes corps oléiformes montrent déjà une teinte bleue où brillent et s'agitent des globules réfringents bleus. Le rouge neutre donne une coloration brune puis rouge brique ou rose. Cette modification de la coloration traduit un changement dans l'alcalinité du milieu et indique une réaction acide.

b) *Plagiochila asplenoides*. — Nous avons renouvelé ces diverses expériences chez quelques Hépatiques à feuilles et en particulier chez *Plagiochila asplenoides*. Dans leur ensemble les faits se répètent suivant le même mode. La division finale du système vacuolaire varie avec les espèces (fig. 1 à 8, pl. IX).

B. *Hépatiques à thalle*. — En est-il de même chez les *Hépatiques à thalle*? Nous avons étudié *Marchantia polymorpha*, *Lunularia cruciata* et *Fegatella conica*. Ces plantes possèdent quelques cellules à corps oléiformes, parsemées entre les autres.

a) *Dès les plus jeunes stades*, la différence entre ces deux

sortes de cellules se manifeste par le volume : les cellules à corps oléiforme sont plus petites et presque cubiques.

Sur le *vivant*, nous ne distinguons pas l'appareil vacuolaire, mais nous voyons, dans toutes les cellules, la présence de chloroplastes plus petits et plus nombreux dans celles qui donneront naissance aux corps oléiformes (fig. 5, pl. X).

Quelques cellules différenciées en poils sur les bords de l'extrémité végétative ne renferment pas de chloroplastes. Leur protoplasme semble granuleux et quelques vacuoles ovales s'y dessinent. D'une façon constante, nous y avons relevé la présence de cristaux de carbonate de chaux : ce sont des cristaux pyramidaux à base triangulaire qui se dissolvent sous l'action de l'acide acétique. Ces cristaux apparaissent à l'intérieur des vacuoles. Tout petits, nous les voyons animés du mouvement brownien ; quand ils atteignent un volume important ils deviennent immobiles. Leur masse présente quelquefois des stratifications, indices de leur construction progressive (fig. 11, pl. IX).

L'examen de ces diverses cellules à l'*ultra-microscope* en lumière électrique ou en *radiations ultra-violettes*, ne nous apporte pas plus de renseignements.

Dans une goutte de *colorant vital*, le système vacuolaire se colore électivement. Les jeunes cellules, qui donneront les corps oléiformes, montrent parmi les chloroplastes, un fin réticulum où s'égrènent un chapelet de globules réfringents très petits. Avec le bleu de crésyl, ces formations se colorent en violet et avec le rouge neutre, en orangé (fig. 1, 2, pl. X).

b) *Au cours du développement cellulaire*, ces trabécules augmentent de volume et confluent en certains endroits. Ainsi se trouvent réalisées de nombreuses vacuoles qui contiennent des globules réfringents (fig. 3, 4, pl. X).

Ces vacuoles se soudent enfin pour donner un gros corps oléiforme (fig. 7, pl. X). Quelquefois cette évolution s'arrête et la cellule adulte renferme deux à trois corps oléiformes (fig. 6, pl. X).

Alors le bleu de crésyl donne une teinte bleue et le rouge neutre, une teinte rouge brique au corps oléiforme constitué. Tandis qu'au long de ces transformations, la coloration vitale du système vacuolaire varia du violet au bleu, de l'orangé au rouge brique.

Les caractères de l'appareil vacuolaire sont différents dans les autres cellules du thalle. Le vacuome est toujours métachromatique dans les jeunes stades et se présente sous forme de petites vacuoles violettes. En se développant les vacuoles se fusionnent et enfin ne persistent que 3 à 4 vacuoles arrondies, légèrement teintées en bleu, sans précipités à leur intérieur. Tandis que les poils unicellulaires de la marge de l'extrémité végétative, montrent à l'intérieur de leurs vacuoles de minuscules cristaux.

2^o Observation des coupes fixées

Tels sont les faits enregistrés au cours de l'observation vitale. Voyons les renseignements que nous donneront l'examen des coupes fixées. Puis nous comparerons les résultats de ces deux modes d'observation.

Nous avons utilisé les mélanges fixateurs de CHAMPY et de REGAUD et nous avons coloré à l'aide de l'hématoxyline de HEIDENHAIN.

A. — Comme *Hépatique à feuilles* nous avons observé tout particulièrement le *Radula complanata*.

Ses cellules embryonnaires montrent un cytoplasme condensé. Le noyau volumineux possède un gros nucléole, tou-

jours très coloré. Les chloroplastes se présentent sous forme de granules ou de petits bâtonnets trapus. De rares sphérosomes s'espacent dans le cytoplasme. Celui-ci laisse paraître des lacunes très petites non colorées: c'est le système vacuolaire. Quelques-unes de ces lacunes sont colorées en noir (fig. 2 à 8, pl. VII).

Dans les cellules plus âgées, nous voyons les lacunes augmenter de volume. Elles sont presque toujours incolores, mais certaines fixent le colorant et montrent un réseau aux **larges** trabécules (fig. 1 à 5, pl. VIII).

Vers la tige ou l'ébauche foliaire, les corps oléiformes existent. Ils renferment un précipité jaune d'or, laissant des aréoles vides, emplacements des globules réfringents d'essence, dissous par les réactifs (fig. 6, pl. VIII).

B. — Chez une *Hépatique à thalle*, *Lunularia cruciata*, nous observons des phénomènes semblables dans les cellules à corps oléiforme. Mais ici, le système vacuolaire se transforme rapidement en nombreuses vacuoles arrondies qui, petit à petit, se réuniront plus ou moins entre elles pour donner naissance aux corps oléiformes.

Les cellules ordinaires du thalle sont plus grandes que les précédentes et renferment un système vacuolaire plus volumineux où se précipitent des sphérules colorés.

Dans les poils de l'extrémité végétative, le vacuome est abondant et constitué par de nombreuses vacuoles arrondies. Le protoplasme ne renferme aucun plaste ou granules gras-séux mais quelques sphérosomes.

C. — *Interprétation des faits.* — Toutes ces images ne peuvent être interprétées qu'à l'aide des données fournies par l'observation vitale.

Dans les cellules embryonnaires où le corps oléiforme

n'existe pas, le vacuome contient de la métachromatine qui se voit quelquefois précipitée et colorée, ainsi que MM. P. A. et P. DANGEARD l'ont démontré dans leur étude sur le vacuome. Dès que les produits caractéristiques du corps ooléiforme : essence et tannoïdes, se forment, nous voyons à leur emplacement un précipité jaune d'or où se dessinent des lacunes, images du contour des globules d'essences dissous par les réactifs.

5° CONCLUSION

Ainsi, chez les Hépatiques à thalle comme chez les Hépatiques à feuilles, nous avons observé la genèse des corps oléiformes aux dépens du vacuome. Progressivement les réactions chimiques du suc vacuolaire changèrent, les trabécules se modifièrent et, peu à peu, les corps oléiformes se constituèrent.

Globules d'essence et tannoïdes apparaissent alors comme les produits finaux d'une réaction chimique dont le vacuome est le siège. Essayons de pénétrer par l'analyse le *mécanisme de ce phénomène chimique*.

D'où peuvent venir les corps qui entrent en réaction? Certainement du protoplasme, où se sont combinés les corps formés sous l'influence des chloroplastes, du noyau et peut-être des sphérosomes, vrais « chromatinosomes permanents » de P. A. DANGEARD. Leur pénétration dans le suc vacuolaire se produit suivant les lois de l'osmose.

Et alors la réaction commence. Mais, pour ce faire, une grande dépense d'énergie est nécessaire. Seul peut réaliser cette transformation, un corps situé dans le vacuome sous un petit volume et persistant au travers de toutes les actions chimiques, pendant la croissance du corps oléiforme. Ne sont-ce pas là les qualités propres aux catalyseurs? Nous pensons que

cette propriété appartient à un corps présent dans le liquide vacuolaire, peut-être pourrions-nous la rattacher à la méta-chromatine de DANGEARD.

La réaction, une fois déclenchée, se continue jusqu'à la mort de la cellule, en produisant de l'essence et du tannin.

Pour fixer les idées, établissons une relation chimique qui représente avec vraisemblance les phénomènes étudiés.

CHARABOT et GATIN traduisant en une équation chimique leur hypothèse de l'origine des essences écrivaient :

Glucoside + eau + ferment hydrolysant = glucose + essence. Parler de ferment hydrolysant, c'est encore invoquer une action catalytique.

Aussi reprenant une comparaison analogue, sans préjuger des corps chimiques qui entrent en réaction, nous pouvons écrire la formule suivante :

Composé chimique (ternaire ou quaternaire) + eau + catalyseur (chromatine?) = tannoïdes + essence.

Le tannoïde est un corps moins avancé que le glucose dans la démolition de la molécule et peut par dédoublement sous l'influence d'une diastase ou d'un corps analogue, donner de l'acide gallique et du glucose.

Tannin et globules d'essence procéderaient par conséquent, d'une origine commune. Et la vacuole à essence et tannin c'est le corps oléiforme dont nous allons suivre le développement.

2^o Développement

Les jeunes corps oléiformes, nés de la division du système vacuolaire sont plus ou moins nombreux. Peu à peu ils se fusionnent pour donner naissance à un ou plusieurs corps oléiformes définitifs.

Cette disposition finale varie suivant la position de la cellule dans la plante et les espèces d'Hépatiques.

Dans une Hépatique à feuilles, comme *Radula complanata*, les cellules des feuilles voient leurs vacuoles se souder pour donner un seul corps oléiforme. Tandis que les cellules de la tige et celles des feuilles qui portent des rhizoïdes, conservent plusieurs corps oléiformes. Cette dernière disposition semble se montrer là où les phénomènes de la vie cellulaire se produisent avec le maximum d'activité, peut-être suivant le trajet des substances absorbées et transmises par capillarité.

Mais pourquoi *Plagiochila asplenioides* possède-t-il plusieurs corps oléiformes dans ses cellules adultes? Nous ne pouvons pas invoquer des causes semblables à celles du *Radula complanata*. Ici, interviennent d'autres facteurs physico-chimiques: composition spéciale de la cellule, disposition particulière des éléments cellulaires, en un mot les caractères propres à l'espèce.

Toutefois nous pouvons saisir une relation entre le nombre des corps oléiformes et leur volume. Plus ils deviennent gros, moins ils sont nombreux et inversement.

Ces deux caractères; nombre et volume, contribuent, en partie, à donner au corps oléiforme sa localisation cellulaire et sa morphologie spéciale. Unique et gros, le corps oléiforme se place au centre de la cellule et se moule dans le cadre cellulaire (*Radula complanata*); multiples et petits, les corps oléiformes, arrondis, s'essaient dans le protoplasme (*Lejeunea serpyllifolia*, *Lophocolea*, *Plagiochila*). Mais la raison principale de leur forme et de leur situation intracellulaire se trouve dans la segmentation du système vacuolaire.

Et pendant ce développement, que deviennent les propriétés physico-chimiques du corps oléiforme? Elles se précisent.

Globules d'essence et tannin deviennent plus abondants. De même que les cristaux de carbonate de chaux se bâtissent progressivement, ainsi les globules d'essence et le tannin augmentent en quantité. Dans l'action du suc vacuolaire, la méthode paraît la même, quel que soit le produit élaboré.

Parlerons-nous *de division des corps oléiformes*? GARJEANNE écrivait que les jeunes cellules qui possédaient des vacuoles sans corps oléiforme, pouvaient seules se diviser; les cellules à corps oléiformes bien formés ne se divisaient plus.

En examinant une feuille de *Radula complanata*, où les cellules présentent en général un gros corps oléiforme, nous ne remarquons pas de figures de division. Mais les jeunes cellules qui renferment plusieurs corps oléiformes, montrent des divisions cellulaires. Ce phénomène se trouve très net à la périphérie des feuilles, là où se forment les propagules chez *Radula complanata* et les dents chez *Plagiochila asplenoides*. Les cellules adultes et âgées, même avec plusieurs corps oléiformes, ne se divisent plus. La division cellulaire semble l'apanage de la cellule en grande activité et disparaît quand la cellule atteint son maximum d'organisation.

3° Apogée

Alors, bien gonflé de globules d'essences, refoulant les éléments cellulaires, le corps oléiforme étincelant a atteint son état adulte. C'est lui que nous avons décrit dans les différentes espèces d'Hépatiques des environs de Nancy.

Dans la cellule, le noyau, avec son gros nucléole, les chloroplastes, bien développés et nombreux, se colorent avec intensité sur les coupes fixées. Près d'eux se voient des globules

gras. Des sphérosomes abondants se meuvent dans le cytoplasme. Toute la vie cellulaire semble évoluer avec un équilibre parfait.

4° Déclin

Mais cet état ne peut persister longtemps. L'incapacité de se diviser et de se développer marque une diminution de l'activité cellulaire. Les chloroplastes, le noyau avec son nucléole deviennent moins colorables. Le corps oléiforme semble impassible à ces signes précurseurs de la fin. Et cependant la vacuole se rétracte, les globules se fusionnent, et les mouvements browniens s'atténuent. Le corps oléiforme devient bosselé, ses dimensions sont moindres.

5° Mort

C'est la mort de la cellule qui approche.

Maintenant les chloroplastes sont incolores, un début de plasmolyse se dessine, le corps oléiforme se contracte, se vide et se décolore. C'est la désorganisation cellulaire qui commence. Un traumatisme quelconque (choc ou mandibules d'insecte) peut l'achever avec facilité en dispersant son contenu. Demeurée attachée à la plante, la cellule est envahie par des bactéries diverses, surtout par les anaérobies de la pourriture. Quelquefois, des champignons imparfaits envoient leurs hyphes à l'intérieur des cellules dont ils se nourrissent. Dans cette nourriture pour bactéries et champignons, les premiers éléments qui disparaissent ce sont les chloroplastes, puis le protoplasme, et enfin les corps oléiformes. La membrane résiste et n'attire pas le tactisme de ces êtres. Les nombreuses bactéries de la fermentation des celluloses la détruiront plus tard.

Ainsi s'en vont les corps oléiformes et les éléments cellulaires.

Ce développement des corps oléiformes, nous l'avons observé dans le milieu normal, c'est-à-dire sous l'influence de facteurs physiques et chimiques d'intensité moyenne. Que ceux-ci changent, alors que deviendra le corps oléiforme? Quelle est l'influence réelle du milieu sur la morphologie, le développement et la nature chimique du corps oléiforme? C'est ce que nous allons examiner dans le chapitre suivant.

CHAPITRE IV

INFLUENCE DU MILIEU

L'influence du milieu, c'est la résultante de l'action des facteurs écologiques et des réactions cellulaires.

1° HISTORIQUE

Cette action des facteurs écologiques fut étudiée dès le début de la description des Hépatiques à thalle. Plantes très malléables, elles attirèrent l'attention des savants. MIRBEL, en 1835, en étudiant la germination des propagules, constatait la détermination de la dorsiventralité des faces du propagule, selon l'exposition de la lumière: la première face qui vit la lumière fut la face dorsale.

PFEFFER, en 1871, recommença cette expérience en éclairant, par-dessous, un verre où nageaient des propagules de *Marchantia*.

Observant l'action de la lumière sur le thalle des *Marchantia*, SACHS, en 1878, vit, sous l'influence d'une source lumineuse assez intense, la lame du thalle abandonner le support et s'orienter perpendiculairement aux rayons lumineux. Si l'intensité lumineuse s'abaissait, le thalle devenait vertical, de façon que le côté supérieur fut concave. Enfin, à l'obscurité, le thalle était vertical, en gouttière.

BEAUVÉRIE étudia les modifications expérimentales des thalles de *Marchantia* et de *Lunularia* en 1897.

Il vérifia les expériences précédentes concernant l'influence de la lumière. Dans une expérience de « la carafe à goutlot court », il démontra le géotropisme négatif des thalles. Deux coupes illustrent ce mémoire: l'une empruntée en partie au docteur NESTLER, figure une coupe transversale d'un thalle normal de *Lunularia* où se trouvent des corps oléiformes, l'autre dessinée par BEAUVÉRIE est une coupe transversale et médiane d'un thalle anormal de *Lunularia* sans corps oléiforme dessiné et sans rhizoïdes lisses.

Les effets de la lumière et du géotropisme furent mis en évidence par l'expérience de COSTANTIN en 1898. Ce savant éclaira un thalle de *Marchantia* avec une lumière assez forte, sous un angle de 45°. Alors, la lame de l'Hépatique s'étala perpendiculairement aux rayons lumineux. C'était la position d'équilibre, résultant des tractions opposées du phototropisme et du géotropisme. Enfin, pour un éclairage faible, le géotropisme du thalle devint prédominant, et la lame se rapprocha de la verticale.

Ce sont des figures analogues que reproduisait R. GEBEL en 1913, montrant des pousses petites et verticales apparues sur un thalle de *Fegatella conica*, isolé à l'obscurité. Les pousses étiolées présentaient le même port. Exposé à la lumière, mais submergé dans l'eau, un thalle normal produisait des pousses moins larges que les pousses normales, mais beaucoup plus larges que les pousses d'obscurité. Dans les thalles aquatiques, il avait constaté que le parenchyme d'assimilation se composait de deux rangées de cellules ordinaires.

Ces modifications morphologiques furent étudiées en 1915 par Pierre LESAGE.

En 1921, DAVY DE VIRVILLE et Robert DOUIN fournirent des dimensions précises sur les thalles immergées. Ils notèrent en outre les modifications anatomiques caractérisées par des stomates très saillants, des parois cellulaires très redressées, des chambre aérifères où les cellules hyalines qui surmontent les poils chlorophylliens avaient disparu, une dorsiventralité atténuée.

En résumé, toutes ces expériences concernaient l'influence de la lumière, de l'eau et du géotropisme sur les Hépatiques à thalle (*Marchantia*, *Lunularia*, *Fegatella conica*). Les auteurs notèrent quelques modifications morphologiques et anatomiques. A part une coupe d'un thalle normal, due au docteur NESTLER et incluse dans le travail de BEAUVÉRIE, aucun auteur ne s'occupa des modifications des corps oléiformes dans ces diverses circonstances.

2° EXPÉRIENCES

Nous avons voulu renouveler ces expériences et vérifier l'influence des divers facteurs, en montrant, à chaque instant, ce que deviennent les corps oléiformes. Toutes choses égales d'ailleurs, nous avons tenté d'observer l'action d'un seul facteur écologique dans l'état de nature, et sous le contrôle de l'expérience.

Nous étudierons successivement d'une part l'action des facteurs écologiques primaires directs du milieu cosmique sur les corps oléiformes : la lumière, la chaleur, l'eau, la composition chimique du substratum, l'état mécanique du milieu, enregistrant les réactions cellulaires à ces éléments ; et d'autre part les facteurs secondaires : la transpiration, l'influence des saisons, la concurrence vitale, l'hérédité.

I. - Facteurs écologiques primaires directs

A. PHYSIQUES

1° LUMIÈRE

a) *Variations en quantité.* — Observons les plantes dans leur *état naturel*. Au près du bassin de la première serre du jardin botanique, en pleine lumière, couché sur la pierre, croît un thalle luxuriant, large et vert, de *Fegatella conica* présentant un diamètre moyen de un centimètre.

A la coupe, nous voyons des corps oléiformes gros et brunâtres au nombre de 2 aux 400 μ^2 . Ils mesurent environ 40 μ de long sur 20 μ de large.

Soumis à une lumière moins forte, le thalle offre une surface moins large. Il présente une largeur de 7 millimètres. Les corps oléiformes ont un diamètre moyen de 17 μ .

Poussant à la faveur d'une lumière tamisée par d'autres plantes, le thalle se réduit encore et ne présente plus que cinq millimètres. Le corps oléiforme mesure environ 15 μ de diamètre.

Thalle et corps oléiforme diminuent de volume avec la réduction de l'intensité lumineuse. Dans la forme d'ombre, le thalle diminue de surface, recourbe ses bords et pousse moins de rhizoïdes; il présente une largeur de 3 millimètres et le corps oléiforme apparaît plus petit, mesurant 13 μ de long sur 8 μ de large.

Devant ces faits de grand polymorphisme du thalle, il était intéressant de *reproduire expérimentalement* ces formes, pour montrer leur enchaînement et la variation concomittante des corps oléiformes.

D'après les faits d'observation nous pouvions émettre l'hypothèse que toutes ces formes du thalle et des corps oléiformes étaient dues à des variations dans l'intensité lumineuse.

Etablissons diverses expériences.

Nous avons cultivé en pleine lumière un thalle : 1° sur la terre des serres ; 2° sur papier filtre ; 3° sur liquide de Detmer. Les thalles poussèrent larges et verts, avec des corps oléiformes bien développés.

Des thalles mis à la lumière tamisée ou à l'ombre fournirent des pousses semblables à celles que nous avons trouvées dans la nature.

Dans toute cette série de formes variables avec l'intensité de la lumière, nous avons remarqué que, parallèlement à une atrophie de la forme du thalle et des rhizoïdes, les cellules diminuent de volume, les chloroplastes de nombre et les corps oléiformes deviennent plus petits.

A part leur forme diminuée, nous retrouvons dans ces corps oléiformes les caractères physico-chimiques étudiés dans le chapitre précédent : présence de globules réfringents d'essence dans une vacuole à solution de tannin.

Au lieu de faire varier l'intensité lumineuse, laissons la constante, sans changement de nuit et de jour. Renouvelons à propos des Hépatiques les expériences entreprises en 1895 par BONNIER sur des Phanérogames. Nous avons placé, sous une cloche de 1.750 cc., sur une lame de verre recouverte de papier filtre trempant dans l'eau, des thalles de *Fegatella conica* et *Lunularia cruciata*.

Les Hépatiques étaient à 10 centimètres d'une lampe à filaments métalliques de 16 bougies, lampe brûlant nuit et jour. La température extérieure était en moyenne de 19°. Ces expériences débutèrent le 29 août 1924, elles furent arrêtées le

7 novembre 1924. A ce moment, nous observons les thalles. Ils ont augmenté de taille. Ainsi un morceau de thalle de *Fegatella conica* qui mesurait 2 centimètres 8 possède en fin d'expérience une longueur de 4 centimètres 5; un thalle de *Lunularia cruciata* de 0 centimètre 8 passe à 2 centimètres 6.

La largeur du thalle nouveau est la même que celle de l'ancien; la différence entre les deux ne paraît pas. Toute la lame est verte et orientée perpendiculairement aux rayons lumineux. Que sont devenus les corps oléiformes? Nous n'avons trouvé aucune différence entre ceux qui sont apparus à la lumière artificielle et ceux du thalle normal. Tous les caractères morphologiques et physico-chimiques étaient semblables. Cette similitude d'aspect et de structure existe entre les corps oléiformes comme entre les deux parties du thalle.

Ainsi la notion d' « étiollement vert », établie par BONNIER au sujet des Pharénogames, ne peut pas être appliquée aux Hépatiques. MASSART Jean étudia, en 1922, l'influence de la lumière continue sur la structure des feuilles, et il arriva à cette conclusion qu'il n'existe pas de différence entre les feuilles poussées à la lumière continue et celles poussées à la lumière discontinue. Ce fait, établi chez les Hépatiques, contredit l'assertion de BONNIER et s'ajoute à la preuve de MASSART.

β) *Variations en qualité.* — Au lieu d'utiliser toutes les radiations du spectre, recherchons quelles radiations pourraient posséder une influence spéciale sur le développement des corps oléiformes.

Pour réaliser cette expérience, nous avons utilisé des écrans colorés. Ceux-ci étaient formés par des substances chimiques en solution aqueuse. Pour le rouge, nous avons fait une solution saturée de fuchsine acide qui correspondait à un spectre

dont la longueur d'onde s'étendait de $0\ \mu$, 70 à $0\ \mu$, 64. La couleur orangée du bichromate de potassium donnait un spectre dont la longueur d'onde était comprise entre $0\ \mu$, 67 et $0\ \mu$, 54.

L'écran jaune formé d'une solution saturée d'acide picrique laissait passer des radiations entre $0\ \mu$, 70 à $0\ \mu$, 55; la coloration bleu entre $0\ \mu$, 53 à $0\ \mu$, 40. Celle-ci était obtenue par une solution de sulfate de cuivre ammoniacale en solution saturée. Une bande, dont la longueur était de $0\ \mu$, 57 à $0\ \mu$, 42, représentait le spectre de la solution saturée de vert de méthyle.

Dans ces solutions, nous avons placé des tubes contenant diverses Hépatiques: *Fegatella conica*, *Lunularia cruciata*, *Plagiochila asplenioïdes*, *Radula complanata*.

Pour chaque espèce et chaque couleur, nous avons disposé cette série de tubes: 1° tubes de 135 cc. contenant 100 cc. d'eau sur une hauteur de 5 centimètres où trempe, sur 3 centimètres, un morceau de papier-filtre, pure cellulose. C'est sur celui-ci que nous plaçons les Hépatiques, puis nous le fermons par un bouchon de coton hydrophile. Nous plaçons ensuite le tube dans le liquide coloré jusqu'à quelques millimètres de l'ouverture. 2° Un tube semblable, clos à la lampe et plongé dans le bain coloré.

La partie supérieure des tubes était protégée des autres radiations extérieures par un écran de papier noir. C'est ainsi, orientées vers une fenêtre et à un centimètre de celle-ci, que toutes ces plantes recevaient la lumière sélectionnée, sous une incidence de 45° . La température moyenne était de 18° .

L'expérience commencée le 22 septembre, à 15 h. 30, fut arrêtée le 2 février, à 13 h. 30. Nous avons remarqué les faits suivants dans les deux séries de tubes.

1° Ecran rouge

Hépatiques à thalle: *Lunularia cruciata* montre une pousse de 33 millimètres de long sur 1 millimètre de large. Sa coloration est verdâtre, grâce aux chloroplastes en partie conservés. Ceux-ci sont normaux mais plus petits et moins nombreux. L'amidon a beaucoup diminué. Quant aux corps oléiformes, leur densité paraît moindre. Ils se présentent sous forme d'une vacuole où les globules d'essence, animés de mouvement brownien, possèdent des diamètres relativement égaux. *Fegatella conica* présente les mêmes caractères.

Hépatiques à feuilles: *Plagiochila asplenoides* qui mesurait, au début de l'expérience, 45 millimètres, mesure actuellement 56 millimètres. Les cellules sont plus petites. Les corps oléiformes conservent leur forme, mais ils ont diminué en volume et augmenté en nombre. Les feuilles normales renfermaient des corps oléiformes longs d'environ 5 à 9 μ et larges de 3 à 5 μ . Les nouvelles feuilles, formées sous l'écran rouge, ont des dimensions moindres et possèdent des corps oléiformes plus petits, mesurant 3 à 6 μ de long, sur 2 à 3 μ de large. Quant à leur nombre, il est augmenté: au lieu de compter cinq corps oléiformes par cellule, nous en voyons ici sept à huit.

2° Ecran vert

Hépatiques à thalle: *Lunularia cruciata* montre une pousse grande et vigoureuse, mesurant 32 millimètres de long, sur 5 millimètres de large. Une nervure centrale se dessine avec netteté. La plante est bien verte. Les cellules renferment trois à quatre chloroplastes et les corps oléiformes bruns, arrondis, mesurent environ 15 μ de diamètre. Comparons-les avec ceux

du thalle normal. Nous voyons une diminution de tous les éléments cellulaires en particulier des chloroplastes et des corps oléiformes. Ceux-ci sont moins nombreux à l'unité de surface, et leur volume est moindre. Les thalles de *Fegatella conica* présentent les mêmes modifications.

Hépatiques à feuilles: Plagiochila asplenoides mesure en fin d'expérience 63 millimètres de long au lieu de 50 millimètres au début. Les nouvelles feuilles n'atteignent pas tout à fait la surface des feuilles normales, mais elles sont beaucoup plus grandes que celles qui apparaissent sous l'écran rouge. Les chloroplastes demeurent assez nombreux. Les corps oléiformes ont un peu augmenté de nombre; nous en trouvons souvent quatre, six, huit par cellule. Ils mesurent en moyenne 5 à 7 μ de long sur 3 μ de large. Leur forme générale est conservée. Les réactions chimiques indiquent toujours, dans leur intérieur, la présence de tannin, mais en moindre quantité que normalement.

3° Ecran bleu

Hépatiques à thalle: Lunularia cruciata apparaît transparent avec une nervure centrale brunâtre. Le thalle n'a même pas augmenté en surface d'un quart de millimètre. Il semble que les tissus soient morts immédiatement, car non seulement la croissance était arrêtée, mais encore les tissus étaient détruits. Les chloroplastes verts ont presque entièrement disparus; les corps oléiformes sont décolorés et désagrégés. Ainsi, rien d'étonnant à voir la surface du thalle, en fin d'expérience, aussi grande qu'au début. *Fegatella conica*, transparent, avec une nervure brune, offre les mêmes particularités que ci-dessus.

Hépatiques à feuilles: Comme les plantes à thalle, *Plagio-*

chila asplenioides fut arrêté dans sa végétation, et ses tissus transparents montrent la disparition des chloroplastes et des corps oléiformes.

4° Ecran orange

Hépatique à thalle: *Lunularia cruciata* étale une lame longue de 33 millièmes et large en moyenne de 5 millimètres. Elle est d'un beau vert, et porte deux petites corbeilles à propagules. Tous ces signes nous indiquent une bonne vitalité des tissus. En effet, les chloroplastes sont nombreux. La densité des corps oléiformes paraît normale et leur forme arrondie ne remplit pas la cellule comme dans le thalle normal. Ils sont colorés en brun et renferment de nombreuses granulations de grosseurs diverses. Ils mesurent en moyenne 21 à 36 μ de long sur 20 à 22 μ de large. Sous les réactifs chimiques, ils montrent les caractères des essences et du tannin.

Le thalle de *Fegatella conica* présente les mêmes caractères.

Hépatiques à feuilles: *Plagiochila asplenioides* présente une longueur de 85 millimètres, alors qu'au début de l'expérience, il en mesurait 52. Les feuilles nées sous ces radiations ont un aspect vert et une surface moins grande que celle des feuilles normales. Leurs cellules, plus petites, renferment des chloroplastes moins nombreux et des corps oléiformes plus abondants (environ six par cellule) mais de volume moindre (6 μ de long sur 2 à 4 μ de large). Ceux-ci conservent toujours les caractères de l'espèce et la nature de leur contenu demeure le même.

5° Ecran jaune

Hépatiques à thalle: *Lunularia cruciata* développe une pousse longue de 32 millimètres sur 4 millimètres de large.

Les corps oléiformes présentent une densité de quatre aux quatre cents μ carrés. Ils mesurent en moyenne 20 μ de large sur 22 μ de long. L'Hépatique est colorée en vert et les chloroplastes sont nombreux. Les corps oléiformes sont plutôt gris que bruns. Leur masse est homogène et leurs caractères chimiques ne semblent pas modifiés. Il en est de même pour *Fegatella conica*.

Hépatiques à feuilles: Plagiochila asplenioides possède une tige et des feuilles plus petites que la tige et les feuilles normales. Au début de l'expérience, nous avons une tige de 48 millimètres et aujourd'hui, après l'action des radiations jaunes, elle mesure 60 millimètres. La couleur de l'Hépatique est verte, les chloroplastes sont abondants. Les corps oléiformes paraissent plus petits et mesurent 4 à 6 μ de long sur 2 à 3 μ de large. Leur nombre est de 6 en moyenne par cellule.

6° Ecran d'eau

Hépatiques à thalle: Lunularia cruciata se développe comme un thalle normal. Il présente une belle coloration verte. Large de 0 centimètre 7 et longue de 4 centimètres, cette Hépatique renferme des corps oléiformes en densité aussi grande que les thalles ordinaires. Quant à leur forme, à leur structure et à leur composition, ces corps oléiformes nous offrent les mêmes caractères que ceux des thalles, trouvés dans la nature. Chez *Fegatella conica*, nous trouvons des faits semblables.

Hépatiques à feuilles: Plagiochila asplenioides pousse sa tige et ses feuilles comme s'il se développait dans les conditions normales. Il mesure 86 millimètres 5 de long et sa coloration est d'un beau vert. Les corps oléiformes offrent la même dis-

position, les mêmes volumes et formes que ceux du thalle primitif, pris comme type.

Sous l'écran d'eau, épais de un centimètre, les Hépatiques reçoivent le spectre solaire peu modifié. Aussi le développement de la plante atteint des proportions plus grandes que sous les diverses radiations isolées.

γ) *Absence des radiations visibles.* — Supprimons l'action du spectre visible, en plaçant nos Hépatiques à l'obscurité et observons les modifications qui vont se produire.

Pour réaliser ce milieu, nous avons établi trois séries d'expériences, afin d'éviter les causes d'erreur.

1° Cultures disposées dans une boîte, elle-même enfermée dans une plus grande, et celle-ci dans une armoire obscure.

2° Cultures disposées dans une armoire obscure, après avoir entouré les cultures d'un double rideau noir.

3° Cultures placées dans une cave complètement obscure.

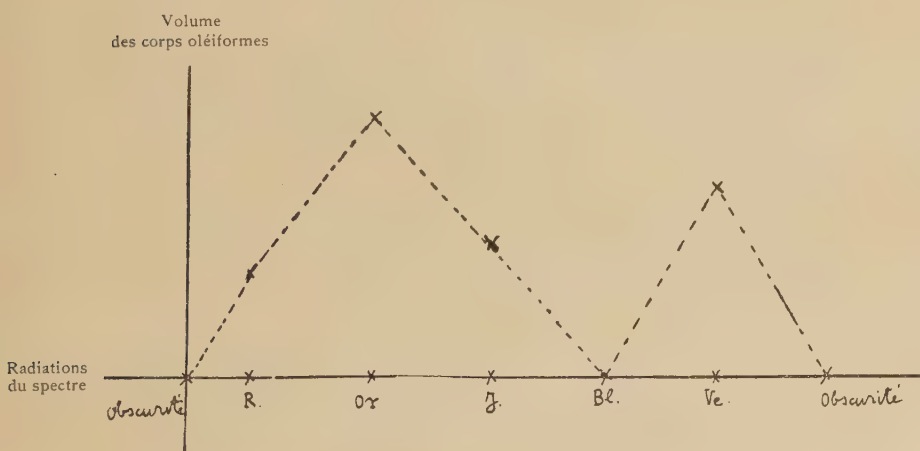
Partout les résultats furent concordants.

1° *Hépatiques à thalle*: *Lunularia cruciata* et *Fegatella comica* développent chacun une pousse qui monte verticalement comme une tige, esquissant à droite et à gauche quelques débuts de ramification. Leur thalle présente une largeur de 0 millimètre 5 à 1 millimètre. Les bords se recourbant vers la nervure de la face dorsale. Après quelques semaines, il apparaît cylindrique vers l'extrémité de la tige. Les points végétatifs sont plus verts que le reste du thalle coloré en vert clair. Ils renferment des chloroplastes très colorés et des jeunes corps oléiformes. Ceux-ci augmentent de volume dans les cellules suivantes. A leur état adulte, ils se présentent comme un amas de quelques gros globules et mesurent 12 μ de long sur 7 μ de large.

Bien que la photosynthèse n'existe plus, la multiplication des chloroplastes et la formation des corps oléiformes continuent encore quelque temps en vertu de l'accumulation des réserves et de l'activité cellulaire. Quand cette énergie s'épuise, nous assistons à la disparition des chloroplastes et des corps oléiformes, à l'arrêt du développement de la plante, à sa mort et à sa destruction.

Hépatiques à feuilles: un fait analogue se reproduit chez *Plagiochila asplenoides*. Comme sous l'écran jaune, l'Hépatique pousse verticale et développe des feuilles petites et verdâtres. Dans ses cellules les chloroplastes et les corps oléiformes présentent des dimensions moindres et disparaissent quand la vie cellulaire s'arrête. C'est la même série de phénomènes que ceux que nous avons observés chez les Hépatiques à thalle.

δ) CONCLUSION. — Traduisons par un graphique les influences des diverses radiations étudiées :



Nous voyons que le rouge influence d'une manière favorable le développement des corps oléiformes de l'Hépatique. Le jaune en ralentit la production; par contre, les radiations vertes, l'augmentent plus que les radiations rouges. Les radiations transmises par l'écran au bichromate de potasse donnent le meilleur rendement. Quant aux radiations bleues, non seulement elles arrêtent le développement de l'Hépatique, mais elles la tuent.

La suppression de toutes radiations empêche la formation des corps oléiformes quand l'énergie chimique cellulaire emmagasinée est épuisée, mais ne tue pas la plante comme le bleu.

A l'obscurité, nous avons vu le thalle prendre une direction différente de la normale.

En supprimant la lumière, nous laissons le jeu se faire entre l'hydrotropisme du support et le géotropisme. C'est celui-ci qui l'emporte d'une façon très nette en manifestant son action négative: le thalle se dresse comme une tige. Nous voyons les corps oléiformes disséminés sous les assises épidermiques, sans présenter de rapport avec la dorsi-ventralité. Leur nature chimique n'est pas toujours influencée. Nous retrouvons toujours les réactions caractéristiques des essences et des tannins. Ceux-ci semblent plus abondants en pleine lumière.

Ainsi l'action de la lumière est morphogénétique aussi bien sur le thalle que sur les corps oléiformes.

2° ACTION DE L'EAU

L'eau, par sa quantité, par sa présence ou son absence, est un second facteur important qui doit agir sur les plantes.

1) *Historique*. — Au cours de la lecture des divers travaux scientifiques concernant les Hépatiques, nous avons trouvé plusieurs expériences de cultures d'Hépatiques, en milieu aquatique.

Beauverie rapporta, pour la première fois, en 1897, les modifications morphologiques obtenues chez *Marchantia* et *Lunularia*, cultivés en atmosphère humide. Sous une cloche et sur la terre humide, ces Hépatiques développèrent des lames vertes étroites et verticales. Une coupe transversale montra une disparition presque totale ou du moins un aspect rudimentaire des chambres aérifères, dépourvues de poils chlorophylliens. Les rhizoïdes possédaient tous, des épaississements cellulotiques internes. Toutes les cellules renfermaient des grains chlorophylliens, mais les corps oléiformes n'étaient pas signalés. GEBEL représenta dans son livre « *Organographie der Pflanzen* » (1913, première partie, page 14, fig. 10) un dessin de *Fegatella conica* poussé dans l'eau sous la lumière solaire. Les nouvelles pousses étaient un peu moins grosses que le thalle primitif, et le parenchyme d'assimilation se composait de deux rangées de cellules ordinaires.

Pierre LESAGE publia les résultats de ses recherches dans le bulletin de la société scientifique et médicale de l'Ouest, le 7 décembre 1915, sous le titre: « Modifications de la forme et des dimensions du *Fegatella conica* ». En 1921, dans une note à l'Académie des Sciences, cet auteur précisa quelques expériences. Celles-ci portèrent sur le développement du *Fegatella conica*: 1° sous un large cristalliseur, avec atmosphère saturée d'humidité, et 2° sous une cloche en atmosphère saturée d'humidité pendant plusieurs années.

Sous le cristalliseur, le thalle mesurait 80 à 100 millimètres de long (normal 100), 2 à 4 millimètres de large (normal 10 à

15), 0 millimètres 35 d'épaisseur (normal 0,75). Sous la cloche, la longueur du thalle était de 50 millimètres, la largeur de 1 à 2 millimètres et l'épaisseur de 0 millimètre 20.

Davy DE VIRVILLE et Robert DOUIN présentèrent à l'Académie des Sciences, en 1921, une note sur les modifications de la forme et de la structure des Hépatiques maintenues submergées dans l'eau. Ces auteurs observèrent des pousses de *Fegatella conica* d'un vert pâle, longues de 70 millimètres et larges de 0 millimètres 4 (normal 10). La dorsiventralité n'était pas atténuée, les stomates étaient très saillants. La chambre aérifère ne contenait plus les cellules hyalines surmontant les poils chlorophylliens.

Leurs expériences portèrent encore sur *Riccia ciliata*, *Lunularia vulgaris*, *Pellia calycina* et enfin sur les Hépatiques à feuilles: *Calypogeia trichomanis*, *Plagiochila asplenoides*, *Lophocolea bidentata*. Ces dernières plantes montraient une élongation de la tige, avec diminution de la taille des feuilles, des cellules à membrane épaisse. La tige possédait des cellules dont la membrane n'était plus cutinisée.

Mais aucun auteur n'a noté les modifications des autres éléments cytologiques. Il n'est jamais question des corps oléiformes.

Après ces diverses expériences l'influence de l'eau sur la forme des Hépatiques nous paraît manifeste. Voyons alors ce que deviennent les corps oléiformes.

2) *Faits d'observation.* — Sur les pierres du bassin de la serre du jardin botanique ou sur les rochers de la Flie, nous voyons le *Fegatella conica* étaler ses lames vertes aux gros corps oléiformes, dans les endroits où le substratum est humide. Si celui-ci s'assèche, le thalle jaunit, se racornit ne pousse

plus et ne forme plus de corps oléiformes. *Lunularia cruciata* sur le mur du jardin botanique, montre aux endroits humides un beau thalle vert, aux nombreux corps oléiformes, mais dont la végétation s'arrête si le soleil le dessèche.

Toutes les Hépatiques à feuilles se cachent au creux des arbres, ou bordent leur pied, partout où demeure quelque humidité. C'est à ces endroits que les plantes forment les corps oléiformes les plus gros et les plus nombreux. Une colonie d'Hépatiques, isolée sur un arbre à deux mètres environ de la terre se développe moins vite et montre des corps oléiformes plus petits. Un fait semblable se produit dans les cellules de ces plantes quand elles sont submergées.

Attachées aux divers supports, les Hépatiques se cantonnent sur l'endroit le mieux exposé aux vents d'ouest. Et c'est un curieux spectacle de voir tous les Hêtres, à l'écorce claire, colorés d'un seul côté, par ces Cryptogames aux teintes vert foncé.

Si l'eau submerge l'Hépatique, celle-ci semble s'étirer, devenir filiforme. Les corps oléiformes apparaissent plus petits, moins denses, moins colorés.

3) *Faits d'expérience.* — Pour éloigner toute cause d'erreur, nous avons eu recours à l'expérience où, toutes choses égales d'ailleurs, seul le facteur humidité variait.

1° *Culture à l'air libre.* — Soumises à la lumière solaire, nous cultivons quelques Hépatiques à thalle et à feuilles sur un morceau de papier filtre de pur cellulose, trempant dans l'eau. Ces plantes continuent à se développer normalement, sans modification de la forme du thalle et des corps oléiformes.

2° *Culture sous une cloche.* — Plaçons ces Hépatiques sur

un même support, sous une cloche. Voici les résultats après deux mois de culture :

Ces plantes conservent leur coloration verte, mais poussent étroites et verticales. Les rhizoïdes très longs présentent un phototropisme négatif et s'orientent perpendiculaires au thalle. Beauverie constata que, dans ce cas, les rhizoïdes à épaississements se développaient seuls chez *Fegatella conica*; nous avons vu chez *Fegatella conica* et *Marchantia polymorpha*, les rhizoïdes sans épaississements cellulotiques prendre un grand développement, et chez *Lunularia cruciata*, les rhizoïdes à épaississement être les plus gros. Jamais dans les rhizoïdes nous n'avons trouvé de corps oléiformes, ou de chloroplastes. Tout se passe, dans cette expérience, comme si ces espèces subissaient l'action du géotropisme négatif et de la lumière. L'action de l'humidité du support disparaît puisque les plantes vivent en atmosphère saturée d'eau.

Outre ces nouveaux aspects, les modifications des corps oléiformes se résument dans le tableau suivant :

Modifications des corps oléiformes chez quelques Hépatiques cultivés dans une atmosphère saturée d'humidité.

HÉPATIQUES	Longueur	Largeur	no des corps oléiformes aux 400 μ^2	Dimensions des corps oléiformes en μ	Couleur	Caractères chimiques
Lunularia cruciata .	3 cm. (1 cm.)	2 mm. 5 (0 cm. 8)	3 (5)	(40/35) 20/15	jaune brun	Caractères des essences et des tannins
Marchantia polymorpha	2,9 (1 cm.)	5 (10 mm.)	1,5 (3)	(27/60) 10/29	jaune brun	
Fegatella conica . .	3,1 (1 cm.)	3 (10 mm.)	1 (2)	(20/40) 18/20	jaune brun	
Aneura pinguis . .	2,5 (1 cm.)	2,5 (0 cm. 9)	2 (4)	(4/5) 2/3	Néant	
Lophocolea minor .	50 (20 mm.)	1 (2)	5 (4-5)	(2/4) 2	Néant	
Plagiochila asplenoides.	86 (50)	3 (7)	8 (6-8)	(30/36) 15/20	Néant	

Les chiffres entre parenthèses indiquent les dimensions au début de l'expérience.

Tous ces chiffres nous montrent les variations concomitantes des dimensions de l'Hépatique et des corps oléiformes. La cellule diminue de volume et tous les éléments cellulaires en subissent le contre-coup.

3° *Culture des Hépatiques submergées.* — Accentuons l'humidité: faisons pousser ces plantes dans l'eau. Voici le résultat de ces expériences, après trois mois :

TABLEAU

Modifications des corps oléiformes chez quelques Hépatiques cultivées dans l'eau

HÉPATIQUES	Longueur en cm ²	Largeur en mm.	d° des corps oléiformes aux 400 μ 2	Dimensions des corps oléiformes	Couleur	Caractères chimiques
Marchantia polymorpha	15	2	1,5	5 μ /4,4	beaucoup moins foncé que dans l'expérience précédente	Présence d'essence et de tannin. Celui-ci paraît beau- coup moins abondant
Lunularia cruciata	16	0,5	2	8 μ /7,1		
Fegatella conica	13	0,4	1	8/8,3		
Aneura pinguis	7	0,5	1,5	1	Néant	
Lophocolea minor	7	1	5	0,9		
Plagiochila asplenoides	11	3	8	6/7		

Les dimensions, au début de l'expérience, sont les mêmes que dans l'expérience précédente.

A l'examen de ce tableau, nous voyons la plante pousser rapidement sous un volume très réduit, comme si elle reportait dans sa longueur la diminution de son épaisseur. Les corps oléiformes présentent une quantité de tannin, des dimensions et une répartition très inférieures à celles des cellules des Hépatiques normales.

Au point de vue anatomique les Hépatiques à thalle nous montrent une différenciation de moins en moins nette entre les deux faces du thalle. Elles deviennent filiformes et poussent droites et cylindriques comme une tige. Leurs chambres aérifères s'atrophient; les poils autrefois hyalins, montrent des grains de chlorophylle et quelquefois même ils disparaissent ainsi que l'ont montré DAVY DE VIRVILLE et ROBERT

DOUIN, Le parenchyme apparaît presque homogène sans épaississements cellulaires. Les corps oléiformes sont disséminés sous les assises épidermiques.

Quant aux Hépatiques à feuilles, elles développent une tige fine et des feuilles étroites sans membrane cutinisée. Les corps oléiformes conservent les caractères spécifiques de forme et de répartition cellulaire. Mais leur nombre et leur volume deviennent plus petits.

4° *Combinaison du facteur eau avec d'autres facteurs.* — Sous l'influence de la lumière solaire, l'Hépatique submergée et filiforme, pousse comme une tige dont elle présente le phototropisme positif. Quelquefois elle présente un mouvement de torsion suivant les aiguilles d'une montre. La morphologie des corps oléiformes se trouve résumée dans le tableau précédent.

Toujours immergée dans l'eau, mais soumise à un *éclairage continu artificiel*, comme celui que nous avons établi dans les expériences précédentes, l'Hépatique prend le caractère aquatique, mais dirige sa pointe vers la lumière. Elle a l'allure d'une vraie tige où les chloroplastes et les corps oléiformes sont aussi abondants que dans les plantes développées dans l'eau en pleine lumière solaire.

Que devient cette forme gracile aquatique sous l'influence des *diverses radiations du spectre*? Elle montre les mêmes différences proportionnelles que nous avons relevées, dans les pages précédentes, chez les Hépatiques cultivées à l'air libre, sous des écrans colorés. Les corps oléiformes varient en raison directe du développement de l'Hépatique.

A l'obscurité, l'Hépatique, dans l'eau, pousse filiforme et offre une homologie complète avec les pousses d'obscurité, à l'air libre. Les corps oléiformes disparaissent progressivement.

Au cours de nos expériences, nous plaçons l'Hépatique au fond de cristallisoirs ou de tubes. La *pression hydraulique* qui s'exerce sur la plante dans ces conditions a-t-elle une influence sur le développement des corps oléiformes ?

• Dans la nature, les Hépatiques se développent dans l'eau des bassins des serres, ou des sources des forêts, sans dépasser 10 cm. de profondeur.

Quelque soit la quantité d'eau qui submergeait la plante, nous n'avons pas remarqué de différences dans la production des corps oléiformes.

Pour vérifier cette observation, nous avons mis, dans un grand bocal d'eau, une série d'Hépatiques à diverses hauteurs, sous l'éclairage solaire. Le bocal contenait 1.850 centimètres cubes d'eau, que nous renouvelions, chaque jour, à l'aide d'un long tube en verre, abouché au fond du vase. La température variait de 20° à 25° centigrades. Sur une lame de verre, plongeant verticalement dans le vase, nous avons attaché, avec de la paraffine, l'une des extrémités de chacun des sept thalles de *Fegatella conica*. Chaque plante se trouvait étagée à des hauteurs progressives et supportait une certaine masse d'eau que nous avons mesurée :

Thalles	Distance du thalle au fond du vase en cm.	Masse d'eau au-dessus du thalle en cc.
—	—	—
1	18	390
2	16	560
3	14	710
4	12	840
5	10	1.050
6	8	1.240
7	6	1.500

Au début de l'expérience, chaque thalle était long de 2 centimètres et large de 1 centimètre en moyenne.

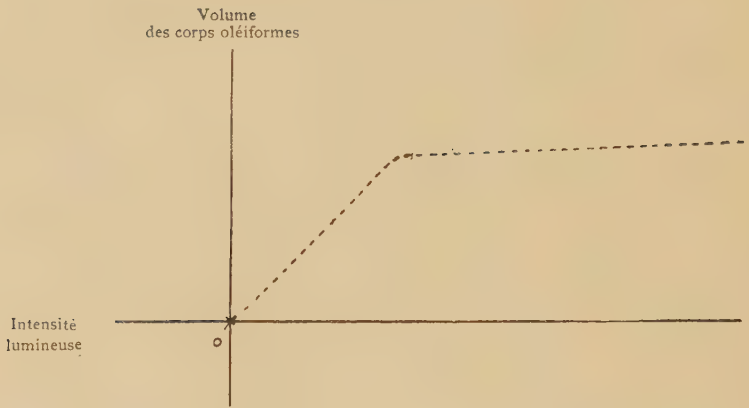
Cette expérience débuta le 3 août 1924 et fut arrêtée le 31 octobre 1924. En voici les résultats :

Tous les thalles donnèrent des pousses filiformes, selon le mode ordinaire de réaction des Hépatiques à thalle sous l'influence de l'état de submersion. Ces thalles filamenteux mesuraient 1 m/m à 1 m/m 5 de large sur une longueur de 5 cm. 5 en moyenne. Leur structure et les caractères de leurs corps oléiformes, étaient analogues à ceux que nous avons indiquées dans la thalle aquatique. L'influence de la profondeur, de la pression hydraulique ne s'est manifestée d'aucune façon. La différence entre les thalles tient à leur ramification ; mais leur morphologie, leur structure et le développement des corps oléiformes présentent les mêmes aspects dans les sept thalles cultivés.

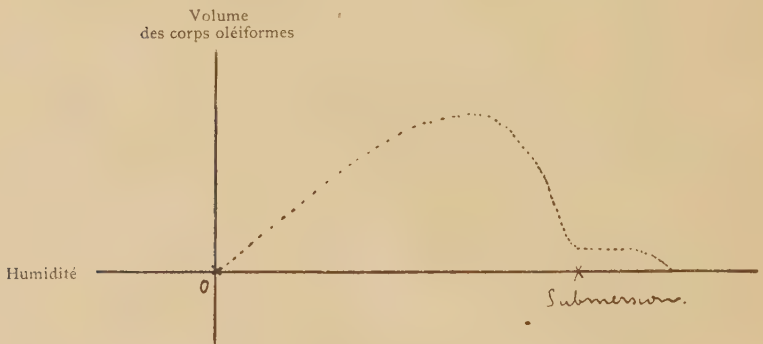
Le *volum*e du *ré*cipient n'intervient pas non plus dans les modifications de la structure de ces plantes. Plusieurs espèces développées dans des tubes de divers diamètres et dans un réservoir rempli d'eau, se ressemblent. Transportons ces plantes ayant séjourné plusieurs mois au fond d'un tube, dans un grand cristalliseur. Nous les voyons alors continuer le développement de leur forme aquatique. Les corps oléiformes offrent le même aspect que ceux des autres thalles d'eau.

4) *Conclusions*. — Sous l'influence du milieu aquatique, les Hépatiques deviennent filiformes. Les corps oléiformes présentent les modifications générales suivantes : leur nombre et leurs dimensions sont diminuées. Et, au point de vue chimique, le tannin paraît moins abondant.

Si nous traduisons par une courbe ces influences de la lumière et de l'humidité sur le développement des corps oléiformes, nous aurons les figures suivantes :



Variations de l'intensité lumineuse ; humidité constante



Variations de l'humidité ; intensité lumineuse constante

3° FROID ET CHALEUR

Lumière et eau apportent avec eux une certaine chaleur. Dans les expériences précédentes nous avons considéré une température constante. Mais ce n'est pas toujours le cas. Dans les endroits où poussent les Hépatiques, l'influence des saisons modifie ces plantes. En hiver, les Hépatiques prennent un aspect racorni, dur, et un peu brun. Les corps oléiformes

développés comme dans les thalles normaux, sont plus colorés.

Cependant nous avons toujours de petites pousses prêtes à partir. Que le printemps arrive avec ses coups de soleil très chauds, l'Hépatique endormie se réveille brusquement et pousse avec rapidité une lame nouvelle, dont la constitution anatomique est semblable à celle du thallé ancien; les corps oléiformes y sont aussi nombreux.

Quelles sont les limites d'existence pour les Hépatiques et, partant, pour la formation des corps oléiformes?

La résistance aux basses températures correspond à la résistance cellulaire. Placé dans une glacière donnant un froid de moins cinq degrés, un thalle de *Fegatella conica* se développe très lentement avec une lame moins large et des corps oléiformes moins volumineux, mais plus foncés. C'est vers + 20 et + 25 degrés que nous avons vu les thalles se développer avec le maximum de rapidité, montrer les dimensions les plus grandes. Vers + 37 ou + 40 degrés, les thalles sont verts, mais la fronde se réduit. A + 50 ou + 55°, les Hépatiques ne poussent plus et deviennent transparentes; il y a eu destruction cellulaire.

L'examen des structures anatomique et cytologique atteste une réduction du thalle avec diminution des corps oléiformes sous les températures anormales.

4° SUBSTRATUM

L'influence du terrain est manifeste sur le développement des Hépatiques. Parmi toutes les qualités du substratum, il nous semble que c'est le degré hydrotimétrique qui soit le plus important.

Sur la terre fertile, sur les écorces lisses ou les pierres

nues, nous trouvons une même espèce d'Hépatique. Et partout, elle se développe avec facilité et montre des corps oléiformes normaux si la quantité d'eau optima lui est fournie.

Recherchons si les modifications expérimentales du substratum provoquent des changements dans les corps oléiformes.

La culture des Hépatiques sur papier filtre, pure cellulose, nous fournit des thalle semblables à ceux de la forêt. Leurs corps oléiformes ne diffèrent en rien de ceux des plantes normales.

Laissons l'eau s'évaporer et peu à peu nous voyons l'Hépatique se dessécher et mourir.

L'adjonction, à l'eau, de composés chimiques nutritifs, augmente les dimensions du thalle et la vitesse de son développement. Nous avons cultivé des thalles de *Fegatella conica* sur du liquide de DETMER. L'Hépatique développa des frondes plus vertes et plus larges que celles du thalle primitif; les corps oléiformes paraissaient plus gros et plus nombreux. Mais il existe un inconvénient à cette méthode de cultures, c'est l'apparition rapide des algues.

Nous avons essayé de cultiver des Hépatiques sur une solution de sulfate de cuivre. Même avec une solution à un pour cent, l'Hépatique ne pousse plus, elle est morte.

5° INFLUENCE MÉCANIQUE

A côté de ces influences écologiques, les Hépatiques sont soumises, dans le milieu où elles vivent, à des traumatismes ou mouvements divers. Voyons si, en ces cas, les corps oléiformes subissent des modifications :

1° *Traumatismes.* — a) *Faits d'observation.* — L'Hépatique, développée sur la terre, se trouve lésée de diverses

façons, par un instrument coupant ou contondant : pierre, mandibules d'insectes.

Selon l'endroit lésé, l'Hépatique réagit différemment.

Si c'est la partie foliacée qui est déchirée, les cellules meurent à cet endroit et les membranes se cutinisent. Que l'accident atteigne le bourgeon terminal, l'Hépatique ne peut plus pousser. Alors, les rameaux latéraux ou bien les « Brutkörper » se développent, perpétuant la plante, dont les autres portions arrêtées dans leur vie, pourriront peu à peu. Au cours de ces lésions traumatiques, les corps oléiformes suivent le sort de l'Hépatique sans manifester une production intense en ces endroits.

b) *Faits d'expérience.* — Pour vérifier ces faits, nous avons eu recours à diverses expériences. Sur des plants de *Fegatella conica*, qui se développaient dans une serre, nous avons exécuté quelques mutilations. Elles intéressèrent plusieurs thalles. 1° Thalle : section transversale au-dessous des rameaux. Le résultat fut la mort lente du thalle qui développa quelques « Brutkörper ». 2° Thalle : section transversale du thalle au-dessus des rameaux. Ceux-ci se développèrent. 3° Thalle : section longitudinale, parallèle à la nervure mais n'intéressant qu'un côté de l'expansion foliaire. L'autre côté et le bourgeon terminal se développèrent. 4° Thalle : sections longitudinales parallèles à la nervure et intéressant les deux expansions foliaires. Seul le bourgeon terminal continua à pousser.

Après ces mutilations, les thalles manifestèrent un arrêt prolongé dans la végétation. Quant aux corps oléiformes, ils se développèrent normalement chez les Hépatiques qui survécurent.

GEBEL, en 1902, avait essayé des mutilations nombreuses

sur le *Fegatella conica* et avait remarqué que les morceaux du thalle restant, redonnaient toujours l'Hépatique originelle. Nous avons recommencé ces expériences, et nous avons utilisé le *Fegatella conica* et le *Lunularia cruciata*. Nous avons pris des thalles longs de un centimètre, que nous avons traités de la façon suivante: 1° thalle section longitudinale intéressant la moitié de l'expansion foliaire; 2° thalle longitudinale intéressant la nervure centrale et laissant une expansion foliaire. Tous les thalles étaient disposés sur du papier filtre, pure cellulose, humide. Quatre mois après le début de l'expérience, des thalles semblables aux Hépatiques normales taillées s'étaient développés. Dans ces nouvelles pousses les corps oléiformes étaient, au début, un peu moins colorés, puis peu à peu ils redevenaient normaux. Les tissus dissociés des Hépatiques peuvent donc survivre au traumatisme. Les cellules se multiplient et s'orientent selon le plan de l'espèce pour former de nouveau un thalle normal. Cette expérience représente une sorte de bouturage où la plante et les corps oléiformes ne présentèrent aucun phénomène de dégérescence.

c) *Conclusions*. — Ces plantes apparaissent comme un assemblage de cellules qui conservent ainsi une véritable individualité. C'est le propre des êtres primitifs. Au cours de ces diverses modifications, les corps oléiformes persistent, montrant une disposition générale et une composition chimique caractéristiques de l'espèce. La forme de l'Hépatique varie à s'y méprendre; le corps oléiforme demeure constant. Si leur production et leurs dimensions diminuent un certain temps, elles reviennent bientôt normales.

2° *Mouvements*. — a) *Faits d'observation*. — Outre les traumatismes, une Hépatique peut être soumise à l'autres phénomènes mécaniques. A la sortie des sources qu'elles ver-

dissent, au bord des ruisseaux parmi les herbes, les Hépatiques plongent plus ou moins dans l'eau et subissent l'effet du courant et des remous. Leur forme s'allonge, s'amointrit, tandis que les corps oléiformes diminuent d'importance. En eau calme, sur les bords du bassin de la serre du jardin botanique, les Hépatiques entrent dans l'eau, poussent jusqu'à deux centimètres de profondeur, puis remontent vers la surface. Elles parcourent tout ce trajet en diminuant de volume, et en montrant des corps oléiformes moins nombreux.

Ce sont ici les mêmes remarques que celles faites pour la forme aquatique.

N'existerait-il pas de différences plus grandes si nous soumettions ces plantes à une action mécanique plus intense?

b) *Faits d'expérience.* — Pour ce faire, nous avons utilisé le germoir automatique, inventé par M. RAYBAUD. Cet appareil est basé sur le principe du mouillage discontinu dans divers bocalaux, pendant des temps définis et différents. Nous avons réglé l'appareil afin qu'un lot d'Hépatiques fut mouillé une heure toutes les deux heures et un autre lot, cinq minutes toutes les deux heures. Les Hépatiques se trouvaient dans de larges tubes de verre et pouvaient parcourir environ huit centimètres aux moments de la montée et de la descente des niveaux d'eau. Au fond de chaque bocal nous avons disposé des Hépatiques entièrement submergées. Enfin, nous avons placé des tubes contenant des thalles normaux, poussant sur du papier filtre, pure cellulose, humidifié d'une façon constante.

Voici les résultats obtenus au bout de deux mois d'expérience :

a) *Thalles mouillés une heure toutes les deux heures.* — Les thalles sont tordus sur eux-mêmes dans le sens des aiguilles

d'une montre; ils ne portent pas de rhizoïdes. Ils sont colorés en vert pâle. *Lunularia cruciata* développe une pousse de deux centimètres de long et 0 c/m 5 de large. La densité des corps oléiformes est de trois aux quatre cents μ^2 . Ceux-ci mesurent en moyenne 15 μ de large sur 20 de long. *Fegatella conica*, long, au début, de 2 centimètres et large de 0 c/m 8, donne une pousse longue de 4 centimètres et large de 0 c/m 2. La densité de ses corps oléiformes est de 1,5 aux 400 μ^2 . Le corps oléiforme mesure en moyenne 10 μ de large sur 14 μ de long.

β) *Thalles mouillés cinq minutes toutes les deux heures.* — Les thalles sont contournés dans le sens des aiguilles d'une montre. Ils sont colorés en vert pâle et ne montrent pas de rhizoïdes.

Lunularia cruciata, primitivement long de 1 centimètre, a poussé de 1 c/m. Nous ne voyons aucune discontinuité entre l'ancien et le nouveau thalle, sauf un petit rétrécissement et une torsion ventrale du thalle nouveau. La densité des corps oléiformes est de 1,4 aux 400 μ^2 . Chaque corps oléiforme mesure en moyenne 28 μ de long sur 18 μ de large.

Fegatella conica, long de 1 centimètre, au début de l'expérience, a fourni une nouvelle pousse de 5 centimètres et large de 3 millimètres. Elle est vert pâle et ne possède pas de rhizoïdes. La densité des corps oléiformes se compte par 2 aux 400 μ^2 , et chacun d'eux mesure en moyenne 20 μ de long sur 15 μ de large.

γ) *Thalles mouillés durant toute l'expérience.* — Ici nous retrouvons les caractères des thalles aquatiques filiformes. Chez *Lunularia cruciata*, la densité des corps oléiformes est de 2 aux 400 μ^2 , et chaque corps oléiforme mesure en moyenne 8 μ de long sur 7 μ de large. Il existe des rhizoïdes avec épaisissements et des corbeilles sur le thalle nouveau.

Chez *Fegatella conica*, la densité des corps oléiformes est de 1 aux 400 μ^2 , et chaque corps oléiforme mesure en moyenne 9 μ de long sur 8 μ de large. Il existe des rhizoïdes sans épais-sissements.

δ) *Thalles témoins*. — Ce sont des thalles normaux. Le *Fegatella conica* montre une densité des corps oléiformes de 2 aux 400 μ^2 , et ses corps oléiformes mesurent en moyenne 40 μ de long sur 20 μ de large. Le *Lunularia cruciata*, avec une densité de 5 corps oléiformes aux 400 μ^2 , possède des corps oléiformes de 40 μ de long sur 35 μ de large. Les rhizoïdes sont très bien développés.

c) *Conclusion*. — *Comparons ces résultats entre eux*. — Nous voyons que le mouvement imprimé aux thalles retentit sur leur développement et leur organisation. Plus ils sont remués, plus ils sont filiformes, plus leurs rhizoïdes disparaissent, moins ils poussent. Alors la densité et le volume des corps oléiformes diminuent.

6° INFLUENCE DES ANESTHÉSQUES

Ces corps chimiques arrêtent momentanément le développement de l'Hépatique. Nous avons exécuté plusieurs expériences sur les Hépatiques au mois de janvier. A cette époque, l'activité de la plante se manifeste par la production d'une pousse nouvelle. Des plants de *Fegatella conica* et de *Lunularia cruciata* furent cultivés sur du papier filtre imbibé d'eau. Nous les avons placés dans diverses atmosphères renfermant des quantités connues d'anesthésique.

Nous avons vu les Hépatiques détruites quand 60 cc. d'air renfermaient une goutte de chloroforme ou 15 cc. d'air une goutte d'éther. Les corps oléiformes étaient dissous. A partir

de cette limite, les plantes se développèrent progressivement à mesure que ces quantités d'anesthésiques diminuaient. Quand les Hépatiques se développèrent normalement, les atmosphères renfermaient respectivement une goutte de chloroforme pour 600 cc. d'air et une goutte d'éther pour 150 cc. d'air. Alors les corps oléiformes ne présentaient aucune altération.

7° CONCLUSIONS

Au cours de l'exposé des diverses variations des corps oléiformes sous l'influence des facteurs extérieurs, nous avons remarqué leurs modifications corrélatives à celles de l'Hépatique. Mais leur disposition intra-cellulaire et leurs propriétés chimiques demeuraient constants.

B. BIOLOGIQUES

Nous considérons sous cette dénomination l'action des animaux et des champignons sur les corps oléiformes des Hépatiques.

Les auteurs apportèrent de nombreuses explications. Beaucoup d'entre eux attribuèrent aux corps oléiformes un rôle de défense contre les animaux et les champignons.

1° CONTRE LES ANIMAUX

1) *Historique*. — En 1874, PFEFFER considérait les corps oléiformes comme des produits d'excrétion qui formaient un tissu de protection.

En 1888, STAHL publia une brochure intitulée: « Pflanzen und Schnecken ». Il voulut y démontrer que les Hépatiques,

à cause de l'âpreté de leurs feuilles et de leurs corps oléiformes présentaient une protection mécanique et chimique contre les animaux. Les traces de pâture, trouvées sur ces plantes, étaient localisées au niveau des parties molles des feuilles. Après avoir fait disparaître les corps oléiformes des feuilles par macération dans l'alcool, il les donnait à manger aux animaux. Ceux-ci absorbaient volontiers les jeunes et vieilles portions de la tige, à cause de leur contenu en sucre. Par contre, des fragments frais et succulents d'Hépatiques sont dédaignés par des limaces même affamées; les lapins domestiques n'y goûtent pas. STAHL fit une expérience comparative. Il mélangea des plantes macérées dans l'alcool avec d'autres fraîches. Après quelque temps, il s'aperçut que les animaux avaient absorbé les plantes macérées et n'avaient pas touché aux plantes fraîches. Il en conclut que l'alcool avait dissout une partie du contenu chimique des plantes, contenu chimique qui les rendait désagréables aux animaux.

STAHL vérifia cette idée en traitant par l'alcool des plantes à odeur violente, à goût vif ou amer que les animaux refusèrent de manger.

Telles sont les Hépatiques que LIMPRICHT avait signalé en 1876 dans « Kryptogamen - Flora Von Schlesien » : *Jungermania bicrenata*, *Jungermania Wenzeli*, *Fegatella conica*, qui possédaient un certain arôme, *Geocalyz graveolens*, à odeur de terpène, *Grimaldia bifrons* et *Reboulia hémisphaerica* au parfum agréable.

Il ajouta à cette liste des espèces de *Riella*, *Targionia hypophylla*, *Pellia épiphilla*, *Jungermania quinquedentata*, *Preissia commutata*.

Les Hépatiques ainsi traitées devenaient comestibles pour les animaux en expérience.

De tous ces faits, STAHL concluait à la présence chez les Hépatiques de composés chimiques : tannins, huiles éthérées, alcaloïdes, substances amères, corps ayant une action sur le goût de l'homme et des animaux, qui jouaient un rôle biologique de défense contre les animaux.

En 1903, DETTO, dans son discours inaugural à Jena « *Über die Bebeutung der ätherischen Ole bei Xerophyten* », conclut que les corps oléiformes doivent être considérés comme des moyens de défense. Il reprit les expériences de STAHL, en faisant manger aux animaux des Hépatiques traitées par l'alcool.

LOHMANN, la même année, publiait le résultat de ses expériences sur des *Limax agrestis*. D'abord, il donna à manger à ces animaux des Hépatiques qui avaient été soumises à la distillation, en présence de l'eau, à 100°, et il remarqua qu'elles étaient mangées plus volontiers que les Hépatiques fraîches. Ensuite il prit des morceaux de papier filtre dont une partie était imbibée d'huile essentielle et une autre partie était laissée intacte. Il remarqua que les *Limax agrestis* mangeaient ces derniers et pas les premiers. De ces faits il conclua que les huiles essentielles pouvaient prétendre à un rôle de défense. Cependant il fit une restriction : c'est que chez certaines Hépatiques, il n'a pas trouvé de corps oléiformes.

MULLER, en 1906, se rangea à l'opinion de ces auteurs.

Enfin, en 1921, MOLISCH, résumant l'état de cette question des corps oléiformes, conclut que les corps oléiformes représentent un produit d'excrétion dont le rôle biologique est la défense contre les animaux.

2) *Faits d'observation*. — Renouvelons ces expériences. Et tout d'abord, observons les plantes dans leur état de nature. Nombreuses sont les pousses de *Marchantia polymorpha*, de

Lunularia cruciata, de *Fegatella conica* qui portent les traces des mandibules d'insectes. Nous avons vu ceux-ci manger des frondes de *Fegatella conica*. Les Hépatiques à feuilles, elles aussi, peuvent servir de nourriture aux insectes, ainsi qu'en témoignent leurs mutilations.

3) *Expériences.* — Essayons de donner des Hépatiques en nourriture à des animaux. Nous avons utilisé diverses Hépatiques, mais principalement le *Radula complanata*, qui renferme, dans toutes ses cellules, un gros corps oléiforme.

Les animaux mis en expérience furent : *Agriolimax agrestis* LINNÉ, *Arion rufus* LINNÉ, *Helix pomatia* LINNÉ, *Helix nemoralis* LINNÉ, *Helix hortensis* O. F. MULLER, *Cavia cobaya* MARCGR.

Nous avons enfermé dans une cage des *Agriolimax* et des *Arion* avec plusieurs pousses de *Radula complanata*. Ces animaux mouillèrent ces plantes de salive. Ils les mangèrent et les digérèrent. Nous avons examiné leurs excréments. Ceux-ci renfermaient des tissus de l'Hépatique, dont une grande partie des cellules ne possédaient plus de corps oléiformes.

Les *Helix pomatia* absorbèrent aussi le *Radula complanata*. Les *Cavia cobaya* mangèrent cette Hépatique, mais la régurgitèrent dans la suite.

4° CONCLUSIONS. — Ainsi le *Radula complanata*, qui renferme les plus gros corps oléiformes, peut être mangé par les animaux sans aucun danger. Entre deux aliments, l'animal choisit celui qui lui plaît le plus.

L'odeur et la saveur désagréables peuvent être suffisantes pour empêcher un animal de manger une plante. Mais certaines Hépatiques possèdent peu d'odeur et de saveur et ces propriétés peuvent être appréciées de façon différente par les animaux. SATAHL écrivait que *Jungermania quinquedentata* et

Preissia commutata étaient mangés par *Limax agrestis* à l'état frais plutôt que macérées.

Les Cerfs dépouillent parfois le pied des Hêtres des mousses et des Hépatiques. HURRIER rapporte que l'homme lui-même utilise, en Indo-Chine, le *Fegatella conica* en infusion à la place du thé. Les anciens apothicaires recommandaient ces plantes au cours des maladies de foie.

Marchantia polymorpha fut utilisé en thérapeutique humaine. DUMONT-COURSET, en 1802, le considérait comme une plante officinale qui possédait des propriétés « détersives, apéritives ». Elle était recommandée dans les maladies de foie. Dans son grand dictionnaire universel du XIX^e siècle, paru en 1873, Pierre LAROUSSE attribue à cette Hépatique une action diurétique. Nous avons lu, dans le dictionnaire des Sciences naturelles, publié en 1821 par plusieurs professeurs du jardin du roi et des principales écoles, la description suivante : « Les propriétés de ces plantes sont presque nulles et se réduisent à celles attribuées aux *Marchantia*, qu'on dit être vulnéraires et utiles dans les maladies hépatiques ou du foie, et dans celles du poulmon. » (Lem.)

La toxicité d'une substance est très variable et n'existe pas pour tous les animaux. Les perdreaux mangent volontiers les baies de belladone et l'homme en meurt. La question de toxicité est une affaire de dose et d'espèce.

Pour être certain des propriétés toxiques des corps oléiformes, nous avons fait, aux *Cavia cobaya*, quelques injections de cette essence. Nous n'avons remarqué aucun symptôme morbide.

Alors qu'on ne saurait parler de l'atropine chez la belladone, comme moyen de défense contre les animaux, il nous semble téméraire de considérer les corps oléiformes comme des or-

ganes de protection contre les êtres vivants. Car les corps oléiformes n'empêchent pas les Hépatiques d'être mangées.

2° CONTRE LES CHAMPIGNONS

1/ *Historique*. — BOKORNY, en 1901, pensait que les corps oléiformes pouvaient jouer un rôle d'antiseptique et de protection contre les Champignons. Ce point de vue fut discuté par RATTRAY, qui signalait chez *Kantia trichomanis* des hyphes de Champignons dans les « corps huileux ». Cependant GÖLENKIN écrivait que les hyphes de champignon rencontrés chez quelques *Marchantiacées* ne se trouvaient jamais dans les cellules à chlorophylle, à mucus, à huile et à sclérenchyme. Les nombreux savants qui étudièrent les Champignons endophytes des Hépatiques ne signalent pas les modifications des corps oléiformes.

2/ *Expériences*. — Ainsi les opinions ne concordaient pas à ce sujet. Nous avons renouvelé ces observations sur les Hépatiques de notre région.

a) HÉPATIQUES A FEUILLES

Voici, par exemple, une feuille de *Radula complanata*. Certaines cellules paraissent d'un vert pâle, d'autres sont décolorées. Ici, nous voyons des filaments mycéliens, courir à la surface de la feuille et s'enfoncer dans les cellules et perforer la membrane, ou bien se loger à l'intérieur de la membrane (fig. 7 à 10, pl. XI). En traversant la cellule, les hyphes détruisent les chloroplastes, le protoplasme avec le noyau, puis les corps oléiformes. Ceux-ci sont réduits en petites masses, décolorées puis absorbées par l'hyphe qui continue sa course vers les cellules vertes voisines (fig. 1 à 6, pl. XI),

Chez d'autres Hépatiques à feuilles, *Frullania dilatata*, *Plagiochila asplenoides*, nous avons retrouvé le même mode d'infestation de la plante. Nous avons observé des filaments mycéliens à l'intérieur des cellules de *Lophocolea bidentata* où NÉMEC en niait l'existence. En ce cas le Champignon se conduit comme un parasite prédateur.

b) HÉPATIQUES A THALLE

α) *Action directe du Champignon.* — Chez les Hépatiques à thalle, le Champignon trouve une grande place pour se loger. Situé à l'intérieur des tissus, il prend le nom générique d'*endophyte*. Nous l'avons vu occuper, outre sa zone de prédilection, les assises à chlorophylle et les cellules à corps oléiformes. Vis à vis de ceux-ci, l'hyphe se conduit toujours de la même façon : il fragmente la masse et la digère.

Ses filaments mycéliens occupent surtout le *thalle âgé*, qu'ils envahissent et détruisent. A la poussée du printemps, un *thalle nouveau*, large et vert se développe jusqu'à atteindre la grandeur de l'ancien, auquel il se rattache par un petit pont large de deux millimètres et long de trois millimètres. C'est alors seulement que les filaments mycéliens traversent ce pont, tandis que d'autres attaquent les rhizoïdes et l'épiderme inférieur. Ainsi, dans les jeunes thalles, pas de filaments mycéliens et les corps oléiformes demeurent indemnes.

Dans une atmosphère saturée d'eau, ou dès le point d'immersion dans l'eau, il y a *suspension brusque de tout accroissement du filament de Champignon*. Pourquoi cet arrêt ? L'eau empêche-t-elle le mycélium de se développer ? Les corps oléiformes n'y sont pour rien et demeurent intacts. Si nous considérons avec GOLENKIN (1902) la présence de cet endophyte

comme une adaptation à la vie xérophytique, nous concevons l'inutilité de la présence du mycélium en milieu aquatique.

β) *Action indirecte du Champignon.* — Le Champignon agit-il à distance sur les corps oléiformes de l'Hépatique?

Certains auteurs ont voulu reconnaître dans la couleur violette des assises sous-épidermiques, un effet de la présence de l'endophyte, et de ce fait, sur les corps oléiformes. Nous avons démontré que cette coloration des membranes n'était pas due au Champignon, car les Hépatiques sans endophyte, cultivées à la lumière solaire, présentaient ce phénomène.

En comparant les corps oléiformes des thalles qui possédaient ces assises colorées et ceux des thalles qui n'en montraient pas, nous n'avons pas remarqué de différence. La coloration violette des membranes ne provient donc pas d'une action du Champignon et n'influence pas les corps oléiformes.

Par sa présence, l'endophyte produit-il dans son voisinage une augmentation de nombre des corps oléiformes? Il semble qu'il en soit ainsi. En effet, dans la nature, un thalle à Champignon paraît plus trapu, plus large et plus vert qu'un thalle indemne. Ses corps oléiformes sont plus gros et nombreux. Pour nous rendre compte de cette action, nous avons utilisé, au cours de nos expériences de mérotomie, des morceaux de thalles avec ou sans Champignon. Les nouvelles pousses, issues des thalles à Champignons présentaient une surface double des autres et des corps oléiformes deux fois plus volumineux et nombreux.

Ainsi, la production abondante de corps oléiformes, au niveau de la zone à Champignons, n'est pas un fait isolé. Sous l'action du parasite, tous les tissus de l'Hépatique réagissent en s'hypertrophiant et en exagérant leur activité.

L'étude d'autres Hépatiques à thalle, comme *Marchantia*

polymorpha, nous a conduit aux mêmes résultats : le Champignon semble un parasite accidentel qui envahit les cellules et détruit les corps oléiformes.

3/ *Conclusions*. — Champignons internes ou externes des Hépatiques à feuilles, endophytes des Hépatiques à thalle épais, tous détruisent les corps oléiformes et s'en nourrissent. Loin d'être un moyen de défense contre les Champignons, les corps oléiformes leur servent d'aliments.

3° CONCLUSIONS

Pas plus pour les animaux que pour les champignons, les corps oléiformes n'apparaissent comme un organe de protection.

3° Etude de l'action des facteurs écologiques secondaires

Ce sont les facteurs qui conservent et augmentent les résultats acquis par les facteurs primaires. Nous distinguerons : la transpiration, les saisons, la concurrence vitale et l'hérédité.

1° TRANSPIRATION

Les phénomènes de *transpiration* sont-ils influencés par la présence des corps oléiformes ? Ceux-ci sont formés principalement par des globules d'essence. Or TYNDALL reconnaissait aux essences un rôle dans la régulation de la transpiration. Nous pensons que chez les Hépatiques les corps oléiformes jouent ce même rôle. En effet, nous voyons, dans la nature, les Hépatiques exposées à la chaleur des rayons solaires, pos-

séder des corps oléiformes plus nombreux que celles qui s'abritent près des sources. Nous pouvons corroborer ces faits d'observation par quelques expériences. Il suffit de rappeler les cultures de *Fegatella conica*, *Lunularia cruciata*, *Marchantia polymorpha*, *Pellia épiphylla*, *Aneura pinguis*, effectuées dans différents milieux humides. L'étude anatomique et cytologique des tissus de ces Hépatiques nous montra une diminution considérable des corps oléiformes en rapport avec une humidité plus grande du milieu. Ainsi les corps oléiformes se trouvent plus abondants où la transpiration est plus grande. Ils semblent diminuer ce phénomène et peuvent être considérés comme des organes d'adaptation à la vie xérophytique.

2° SAISONS

Ce caractère spécial nous explique la résistance des Hépatiques aux intempéries des *saisons*. Durant l'hiver, les parties des Hépatiques à thalle, qui persistent, ce sont la nervure centrale et les « brutkörper », où les corps oléiformes demeurent les plus abondants.

3° CONCURRENCE VITALE

Placées au milieu des Mousses ou autres plantes, les Hépatiques subissent la *concurrence vitale*. Elles réagissent d'autant mieux qu'elles possèdent des corps oléiformes. Nous avons vu quelle résistance physiologique leur conféraient ces formations, et nous comprenons pourquoi le *Radula complanata* présente une extension de plus en plus grande dans nos forêts. Autrefois *Lunularia cruciata* infestait le jardin du roi Sta-

nislas, et maintenant il demeure, malgré tout, sur la terre des serres du jardin botanique.

4° HÉRÉDITÉ

Les corps oléiformes se conservent par l'hérédité dans la lignée sexuée ou végétative sans dégénérer.

Conclusions

En résumé, l'influence du milieu sur les corps oléiformes est manifeste. Ceux-ci suivent, en général, la destinée de l'Hépatique, et apparaissent comme un signe d'adaptation de ces plantes à la vie xérophytique.

Nous avons réfuté les théories et les expériences qu'avançaient certains auteurs au sujet du rôle biologique des corps oléiformes. Ceux-ci ne semblent pas des moyens de défense contre les animaux ou les végétaux.

MOLISCH pensait leur faire jouer le rôle d'écran contre une lumière trop intense. Mais nous ne voyons pas la protection que peut exercer une feuille de *Radula complanata* qui possède l'épaisseur d'une cellule qui contient un gros corps oléiforme. Celui-ci doit absorber des radiations lumineuses, nous avons établi ce fait par l'analyse de son spectre et sa fluorescence sous les rayons ultra-violets. Et nous croyons que ces radiations retenues peuvent devenir une nouvelle source d'énergie dans la cellule.

De toutes ces théories plus ou moins finalistes, nous n'en retiendrons aucune. Par contre, l'observation des facteurs écologiques et des réactions cellulaires nous permet de consi-

dérer le corps oléiforme comme un caractère d'adaptation à la vie xérophytique.

Ce détail de la structure cellulaire, soumis aux lois de l'évolution, devient un caractère important dans le phylum des Hépatiques, et doit intervenir dans la classification de ces plantes.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Au cours de ce travail, nous avons étudié les corps oléiformes des Hépatiques des environs de Nancy.

1° Nous avons entrepris la description de leurs *caractères extérieurs*, qui fut presque délaissée par les auteurs. Nous nous sommes astreint à définir leur forme, leur nombre, leur grandeur et leur situation intra-cellulaire.

D'une façon générale, les corps oléiformes augmentent de nombre quand leur volume diminue.

2° Si ces remarques intéressèrent peu les savants, la lutte des théories scientifiques commença avec l'étude des *caractères intimes* des corps oléiformes.

Au sujet de leur structure, les opinions contradictoires régnaient. Par des observations minutieuses, sur le frais, avec ou sans colorations vitales, par des réactions physiques et chimiques, après l'action des fixateurs avec ou sans colorations postérieures, nous avons démontré que le corps oléiforme ne possédait ni stroma protéique ni membrane.

Le corps oléiforme, l'« oelkörper » des traités classiques, est une simple vacuole, différente des autres par son contenu.

3° Au point de vue de la *nature* de ce contenu, aucune opi-

nion précise n'existait. Nous avons étudié les caractères physico-chimiques des corps oléiformes. Les examens microscopiques et l'analyse des produits de distillation du *Radula complanata* en particulier, d'autres Hépatiques des environs de Nancy et de quelques Hépatiques étrangères à notre région nous amena à la conclusion suivante : le corps oléiforme est constitué par un mélange d'essence et de tannoïdes.

Ce fait est général dans notre région et toutes les substances, que certains auteurs tentèrent d'identifier avec les corps oléiformes, ne supportent pas la discussion et l'analyse scientifique.

4° Le corps oléiforme vu et défini, nous avons tenté de retracer son *histoire*. Comment naît-il ? Le corps oléiforme a son origine dans le système vacuolaire aux dépens de substances chimiques, venues du cytoplasme et transformées par le suc vacuolaire, jouant le rôle de catalyseur. Telle est l'hypothèse la plus vraisemblable sur l'origine des corps oléiformes, que nous avons retenue des théories et de l'analyse minutieuse des phénomènes cellulaires.

Suivant le cycle ontogénétique du corps oléiforme, nous l'avons vu se développer, atteindre son apogée, décliner et mourir.

5° A côté de cette description d'un corps oléiforme dans son milieu normal, nous avons étudié l'action spécifique des *facteurs écologiques primaires et secondaires*.

A. — *Les facteurs écologiques primaires directs et indirects* se distinguent en facteurs physiques et facteurs biologiques.

a) Les facteurs physiques étudiés furent la lumière, l'eau, la température, le substratum, l'influence mécanique.

1/ A partir d'un point maximum d'*éclairage* correspondant à leur maximum de volume, les corps oléiformes diminuent de volume si nous nous dirigeons vers l'obscurité ou une lumière plus intense.

Soumis à une lumière d'intensité moyenne et constante, compatible avec un bon développement, le thalle grandit, sans présenter « l'étiolement vert » décrit par BONNIER chez les plantes supérieures.

Au lieu de faire varier l'intensité lumineuse, nous avons ensuite étudié l'action des diverses radiations lumineuses. Dans l'orangé, le développement des corps oléiformes est le maximum; puis il diminue dans les autres couleurs, moins abondant dans le vert, il est moindre dans le rouge et n'existe plus dans le bleu.

2/ L'étude d'un autre facteur: l'eau, nous montre aussi des modifications des corps oléiformes. Ils diminuent de volume et de nombre à mesure que la quantité d'humidité augmente et présentent des mesures constantes à l'état de vie en submersion. Par contre, la suppression d'eau amène un ralentissement dans leur production, puis son arrêt avec la mort de la plante desséchée.

Sous l'influence combinée de plusieurs facteurs, l'Hépatique montre des effets combinés: l'eau entraîne la réduction des corps oléiformes, la lumière leur augmentation, l'obscurité leur absence et la pression hydraulique n'exerce aucune influence.

3/ Les limites de température pour le développement d'une Hépatique, dans nos régions, se trouve entre — 5° et 0°. Vers + 20° à + 25° se trouve le maximum de développement des corps oléiformes. En allant vers les températures extrêmes, ils diminuent de nombre et de volume, pour ne plus se produire au delà de ces limites, la plante étant morte.

4/ Pour vivre, toutes ces plantes utilisent un *substratum*. Ce support nutritif modifie et change le volume et le nombre des corps oléiformes. Les modifications sont favorables quand la terre est fertile ou le liquide de culture renferme des matières assimilables. Un antiseptique comme le sulfate de cuivre les détruit au volume de 1 %.

5/ Au sein de la nature, ces petites plantes sont soumises à des *influences mécaniques diverses*.

Toute blessure se cicatrise sans le secours ou la production exagérée de corps oléiformes.

Soumis à un mouvement spécial, leur organisation et leur développement se trouvent modifiés. Plus ils sont remués, plus la densité et le volume des corps oléiformes diminuent.

6/ Les *anesthésiques* tuent la plante et dissolvent les corps oléiformes à la dose de 1 goutte 6 de chloroforme ou six gouttes d'éther pour 100 cc. d'air. Jusqu'à 10 gouttes de chloroforme pour 600 cc. d'air ou 1 goutte d'éther pour 150 cc. d'air, l'Hépatique se développe plus ou moins et paraît comme endormie. A des concentrations plus faibles, leur influence paraît négligeable.

b) A côté de ces facteurs physiques, nous avons étudié les *facteurs biologiques*. Contrairement aux expériences de STAHL, nous avons démontré que *Agriolimax agrestis* Linné, *Arion rufus* Linné mangent les Hépatiques fraîches.

Comme les animaux, les champignons absorbent les corps oléiformes.

Vouloir attribuer aux corps oléiformes un rôle biologique de défense, c'est une pure hypothèse finaliste qui ne résiste pas à l'analyse des faits.

B. — Après l'étude de l'influence des facteurs écologiques primaires sur le développement des corps oléiformes, consi-

dérons : quelques *facteurs écologiques secondaires*, la *transpiration*, les *saisons*, la *concurrence vitale* et l'*hérédité*.

Plus la transpiration est grande, plus les corps oléiformes se trouvent abondants. Toutes les influences qui pourraient être néfastes à la vie de la plante, rencontrent une production importante des corps oléiformes. Ceux-ci appartiennent au patrimoine cellulaire et l'hérédité les conserve.

Suivant les variations des familles et des genres, les corps oléiformes sont soumis aux lois de l'évolution. Ils apparaissent comme un caractère important de classification dans le phylum des Hépatiques.

EXPLICATION DES PLANCHES

dessinées à l'aide d'un microscope Leitz, avec condensateur Abbee,
oculaire n^o 6, objectif n^o 7, objectif à immersion 1/12^e et 1/16^e

PLANCHE I

Cellules du *Radula complanata* Dum.

Fig. 1. Cellule d'une feuille. — Fig. 2. Cellule de la base d'une feuille. — Fig. 3. Cellule de la région où la feuille et la tige se réunissent. — Fig. 4. Cellule de la tige près de la zone d'insertion de la feuille.

PLANCHE I

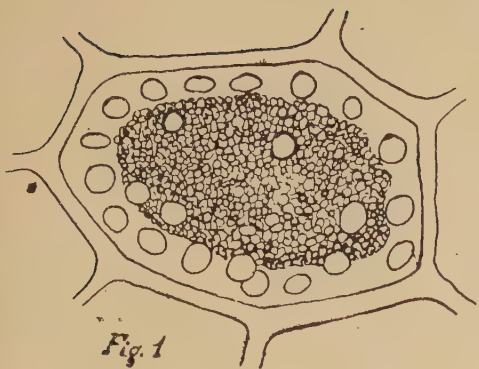


Fig. 1

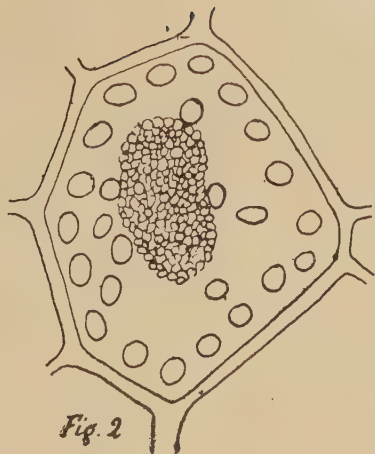


Fig. 2

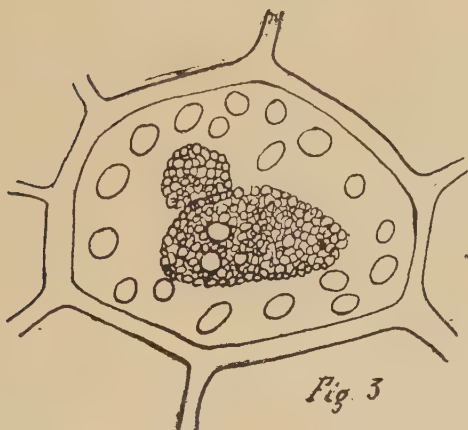


Fig. 3

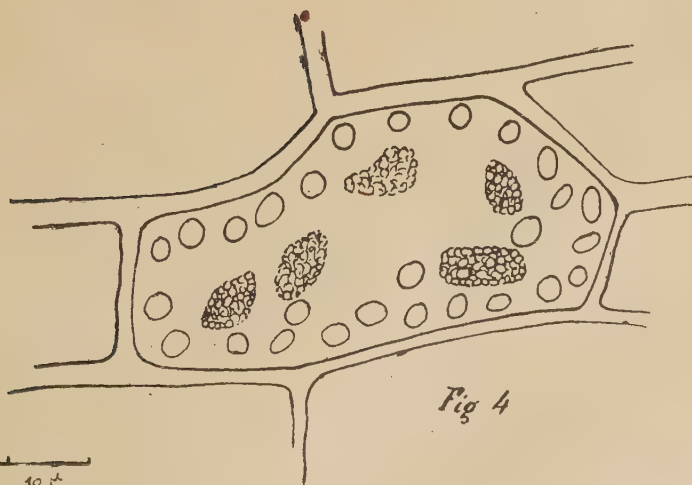


Fig. 4

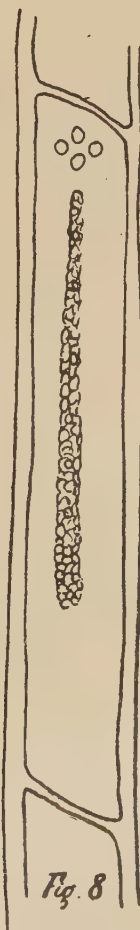
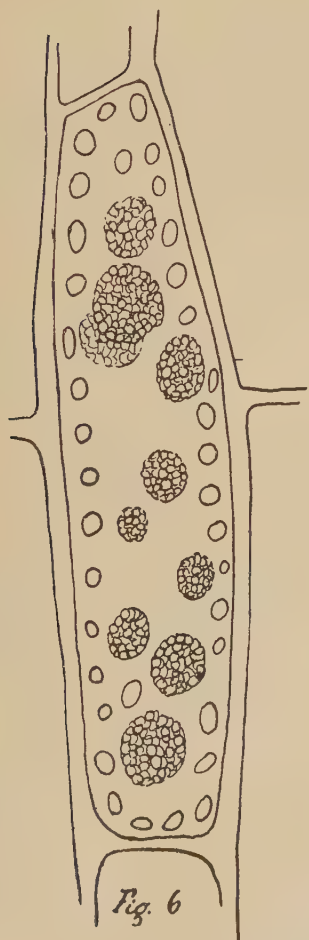
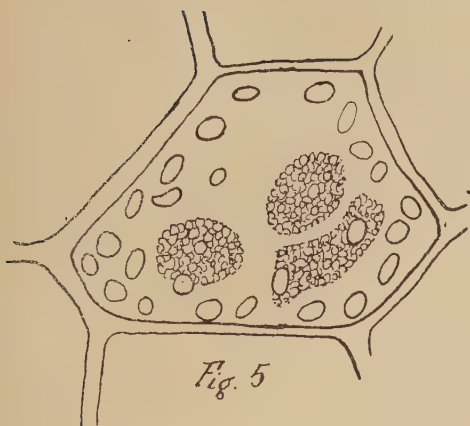
10 μ 10 μ

PLANCHE I (*Suite*)

Cellules du *Radula complanata* Dum.

Fig. 5. Cellule de la région foliaire de la tige. — Fig. 6. Cellule de la tige. — Fig. 7. Cellule à rhizoïdes de la feuille. — Fig. 8. Cellule du pédicelle.

PLANCHE I (Suite)



10 μ 10 μ

PLANCHE II

Fig. 1. Cellule de la feuille du *Frullania dilatata* Dum. — Fig. 2. Cellule de la feuille du *Scapania aequiloba* Dum. — Fig. 3. Cellule de la feuille du *Madotheca platyphylla* Dum. — Fig. 4. Cellule de la feuille du *Plagiochila asplenoides* Dum. — Fig. 5. Cellule de la feuille du *Lejeunea serpyllifolia* Lib.

PLANCHE II

Fig. 1



Fig. 2

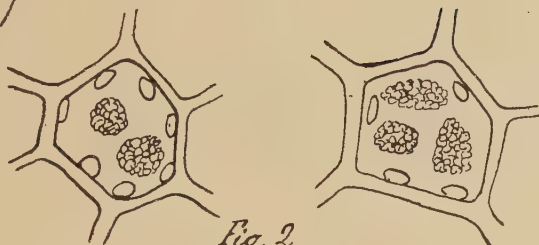


Fig. 3



Fig. 5

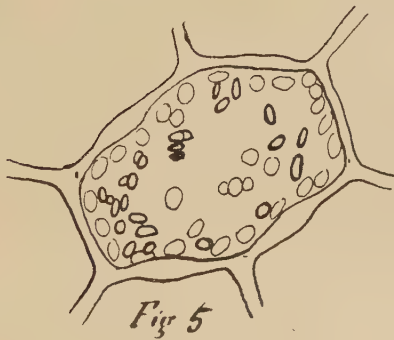


Fig. 4

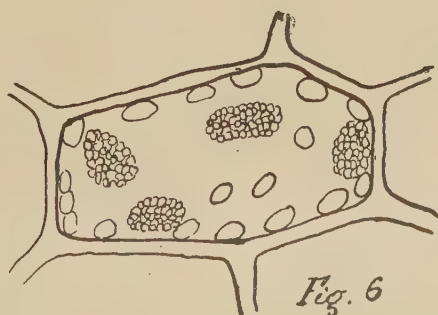
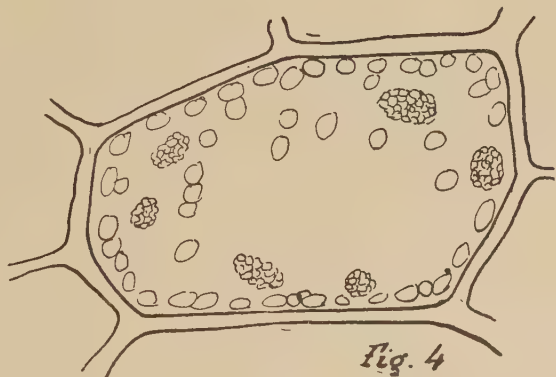
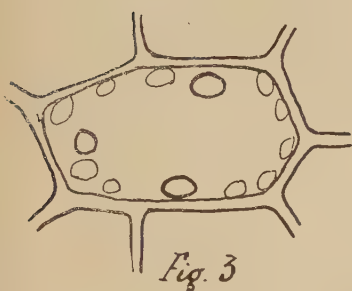


10 μ 10 μ

PLANCHE III

Fig. 1. Cellule de la feuille du *Chiloscyphus polyanthus* var. *pallescens* Lindenb. — Fig. 2. Cellule de la feuille de l'*Aplozia riparia* Dum. — Fig. 3. Cellule de la feuille du *Lophocolca bidentata* Dum. — Fig. 4. Cellule de la feuille du *Lophocolca heterophylla* Dum. — Fig. 5. Cellule de la feuille du *Lophocolca heterophylla* var. *minor*. Douin. — Fig. 6. Cellule de la feuille du *Lophozia Muelleri* var. *Hornschuchiana* Macoun.

PLANCHE III



10 μ 10 μ

PLANCHE IV

Fig. 1. Cellule du thalle de *Pellia Fabromiana* form. *furcigera* Hook. — Fig. 2. Cellule du thalle de *Metzgeria conjugata* Lindb. — Fig. 3. Cellule du thalle d'*Ancura pinguis* Dum. — Fig. 4. Cellule du thalle de *Riccia glauca* L. — Fig. 5. Cellule du thalle de *Lunularia cruciata* Dum.

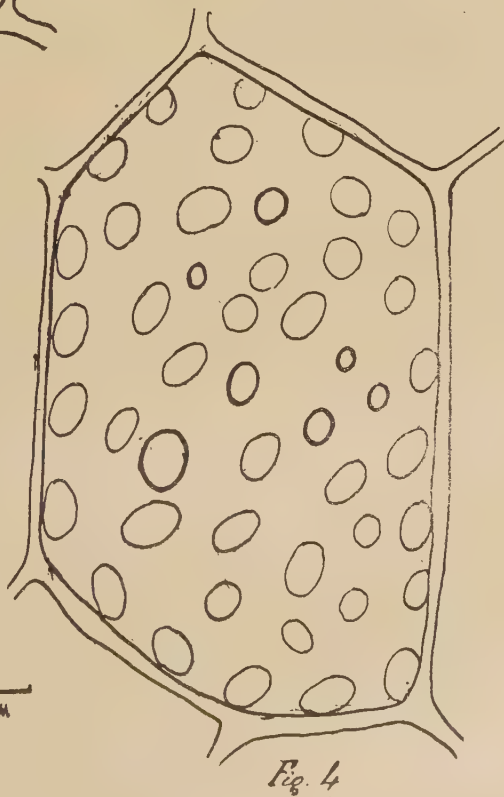
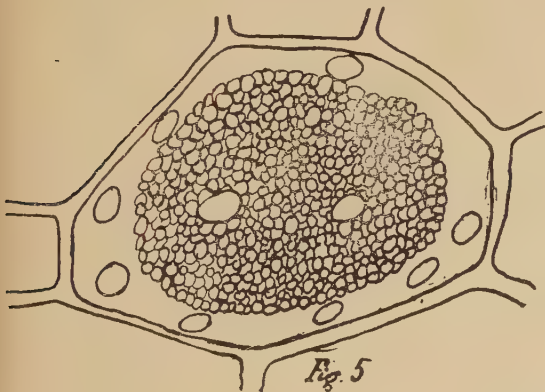
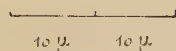
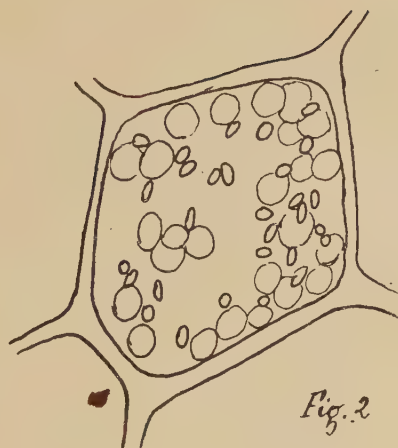
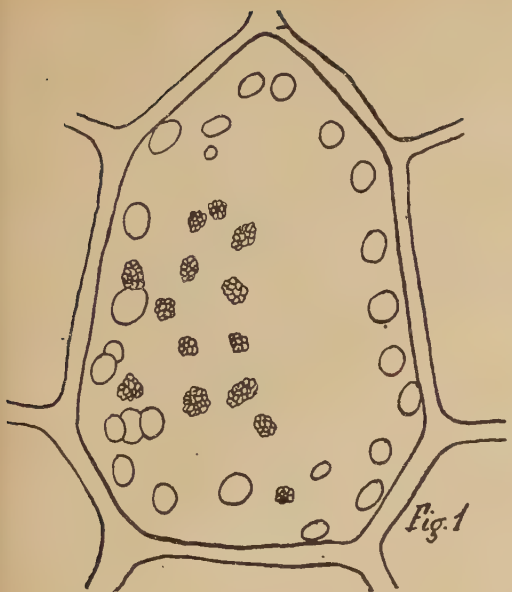
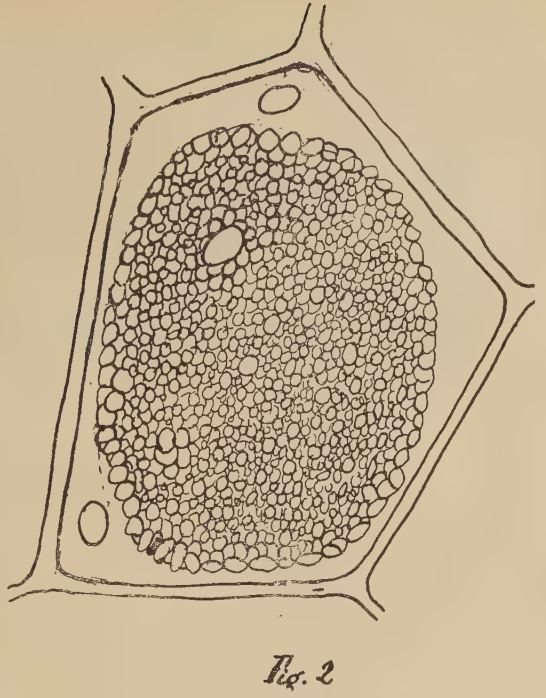
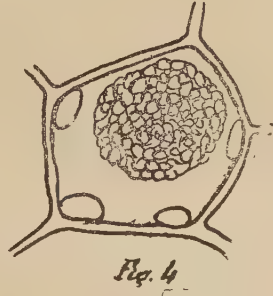


PLANCHE V

Fig. 1. Cellule du thalle de *Marchantia polymorpha* L. — Fig. 2. Cellule du thalle de *Preissia commutata* Lindenb. — Fig. 3. Cellule du thalle de *Fegatella conica* Corda, région épidermique. — Fig. 4. Cellule du thalle de *Fegatella conica* Corda, région sous-épidermique. — Fig. 5. Cellule du thalle de *Fegatella conica* Corda, région centrale.



10μ 10μ



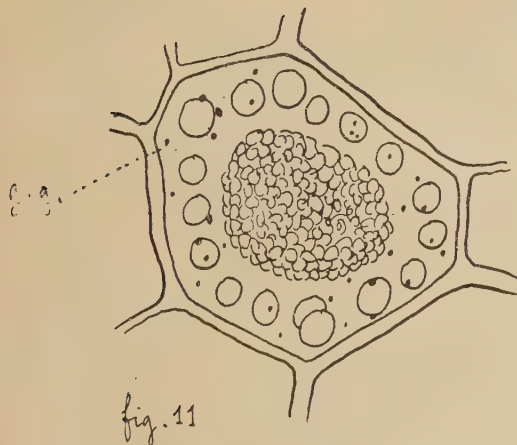
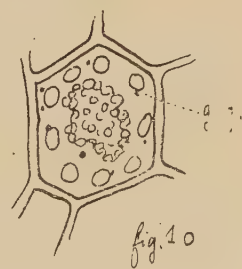
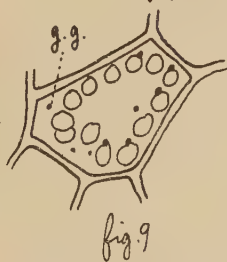
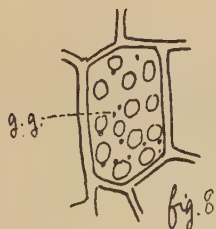
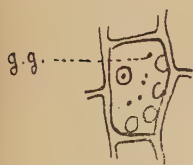
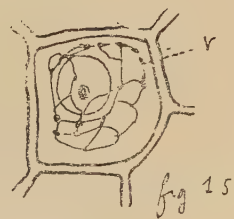
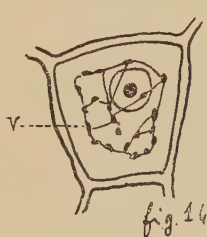
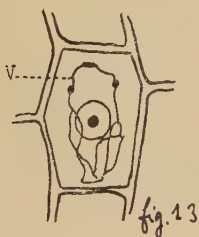
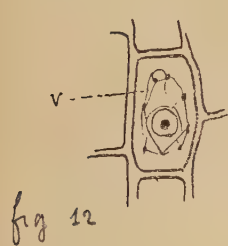
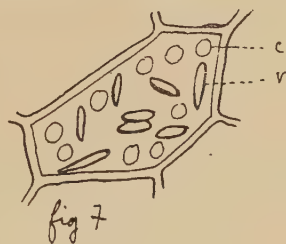
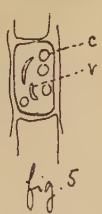
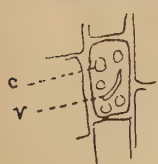
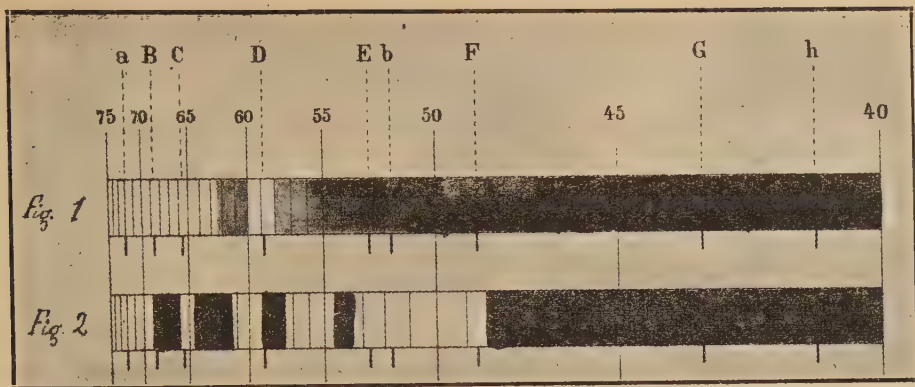
10μ 10μ

PLANCHE VI

Fig. 1. Spectre du liquide brun; spectre de la solution à 1 % de tannin à l'éther. — Fig. 2. Spectre de la chlorophylle d'une feuille de Hêtre.

Examen sur le frais des cellules du *Radula complanata* Dum.
(v.: vacuole; c.: chloroplastes; g. g.: globules graisseux)

Fig. 3. Cellule embryonnaire. — Fig. 4. Cellule embryonnaire. — Fig. 5, 6, 7. Cellule embryonnaire où v. et c. se développent. — Fig. 8, 9, 10, 11. Cellules jeunes. — Fig. 12, 13, 14, 15. Examen après colorations vitales du système vacuolaire.



10 μ 10 μ

PLANCHE VII

Examen des cellules du *Radula complanata* Dum.

(v.: système vacuolaire; c.: chloroplastes; g. g.: globules gras)

Fig. 1. a) Après le fixateur de Regaud; b) Après le fixateur de Champy.

Cellules fixées et colorées à l'hématoxyline ferrique,
selon la méthode de Regaud

(s.: sphérosomes; gl.: globules d'essence; T.: tannin)

Fig. 2. Jeune cellule avec des vacuoles développées. — Fig. 3. Jeune cellule avec des vacuoles plus développées. — Fig. 4, 5, 6, 7, 8. Stades successifs du développement du système vacuolaire. — Fig. 9. Cellule adulte.

PLANCHE VII

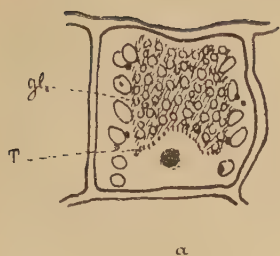


Fig. 1

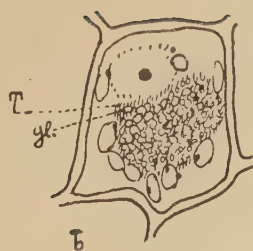


fig. 3

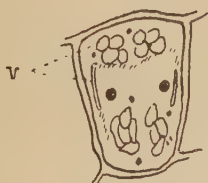


fig. 6



fig. 2



fig. 4

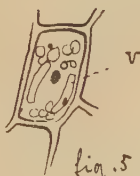


fig. 5



fig. 9

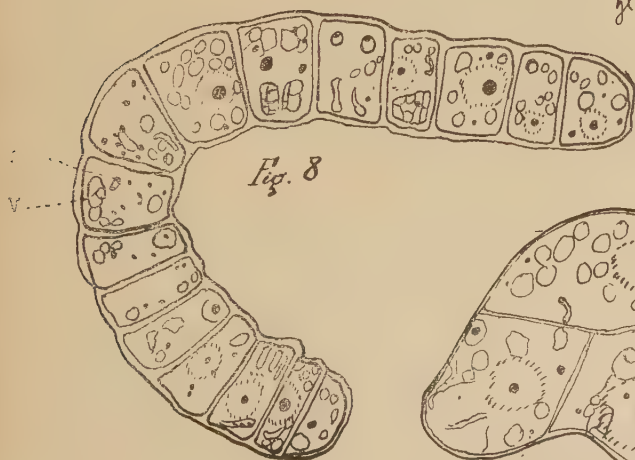


Fig. 8

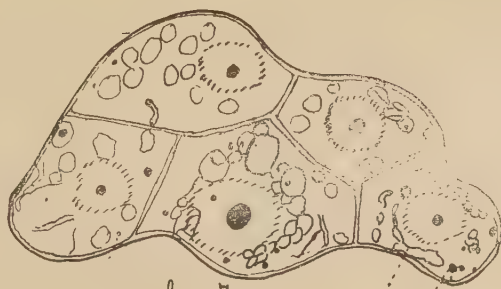


fig. 7



PLANCHE VIII

Examen des cellules de *Radula complanata* Dum. fixées à la manière de Champy et colorées à l'hématoxyline
(v.: système vacuolaire; c.: chloroplastes; g. g. globules graisseux)
(gl.: globules d'essence; T.: tannin)

Fig. 1, 2, 3, 4. Formation du réseau vacuolaire dans les jeunes cellules. — Fig. 5. Système vacuolaire réduit en nombreuses petites vacuoles. — Fig. 6. Etat adulte.

Aspect des cellules sous l'action d'autres fixateurs et colorants

Fig. 7. Bouin-hématoxyline. — Fig. 8. Flemming-hématoxyline. — Fig. 9. Hermann-hématoxyline.

PLANCHE VIII

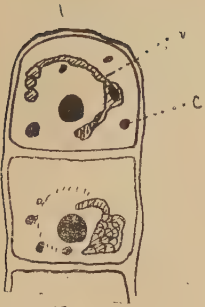


Fig. 1

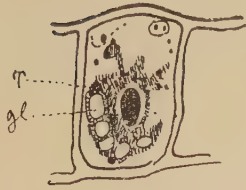


Fig. 2

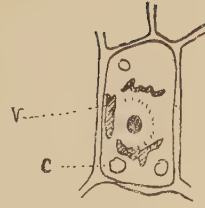


Fig. 3



Fig. 4

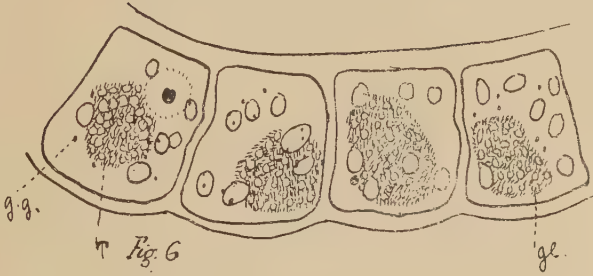


Fig. 6

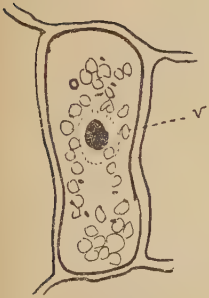


Fig. 5

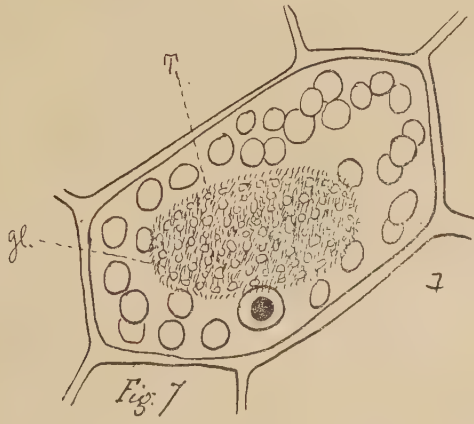


Fig. 7

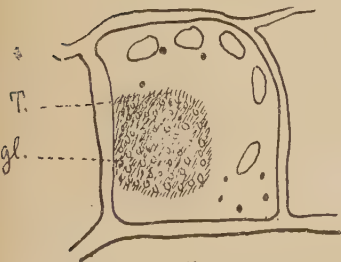


Fig. 8

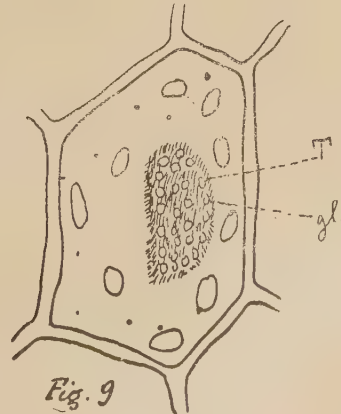


Fig. 9

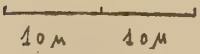


PLANCHE IX

Examen des cellules du *Plagiochila asplenioides* Dum.

(v.: système vacuolaire; c.: chloroplastes)

(gl.: globules d'essence; T.: tannin; g. g. globules gras; c. o.: corps oléiforme)

Sur le frais: Fig. 1, 2, 3, 4, 5, 6. Développement du système vacuolaire.

— *Après colorations vitales*: Fig. 7, 8. Réseau vacuolaire dans les cellules embryonnaires.

Coupes fixées à la méthode de Champy par l'hématoxyline

Fig. 9. *Marchantia polymorpha* L. — Fig. 10. *Lunularia cruciata* Dum.

Fig. 11. Poil de l'extrémité végétative du *Fegatella conica* Corda.

(cri.: cristal pyramidal à base triangulaire de carbonate de chaux)

PLANCHE IX

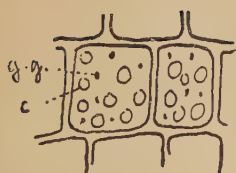


Fig. 1

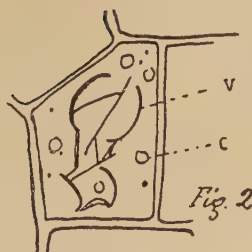


Fig. 2

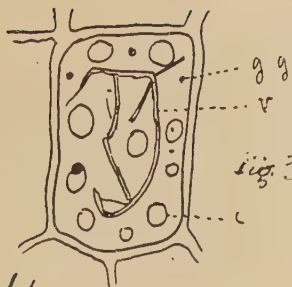


Fig. 3

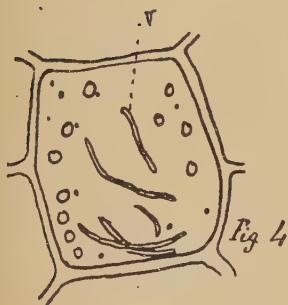


Fig. 4



Fig. 6

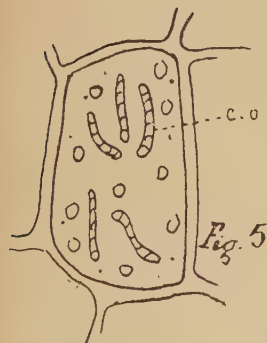


Fig. 5



Fig. 7

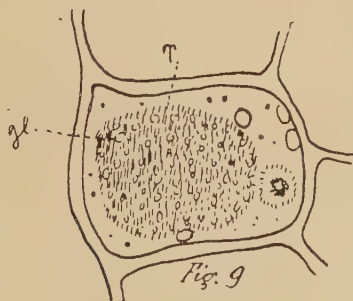


Fig. 9

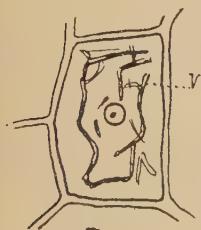


Fig. 8

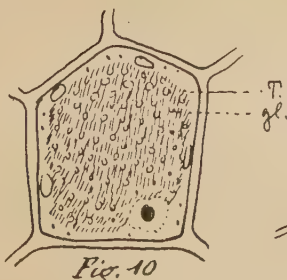


Fig. 10



Fig. 11

10 μ 10 μ

PLANCHE X

Examen des cellules à corps oléiformes du *Fegatella conica* Corda.
(v.: vacuole; c.: chloroplastes; g. g.: globules gras)

Sur le frais: Fig. 5. — *Après colorations vitales*: Fig. 1, 2, 3. Développement du réseau vacuolaire. — Fig. 4. Transformation du réseau vacuolaire et nombreuses petites vacuoles. — Fig. 6. Fusion des petites vacuoles en deux grandes. — Fig. 7. Fusion des petites vacuoles en une grande.

PLANCHE X

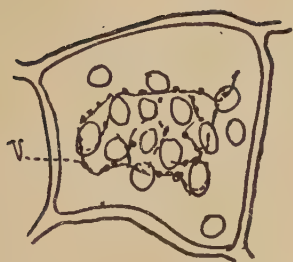


Fig. 1

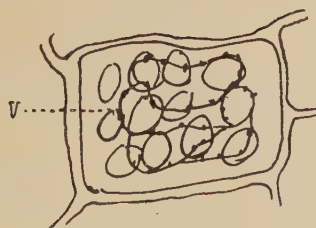


Fig. 2

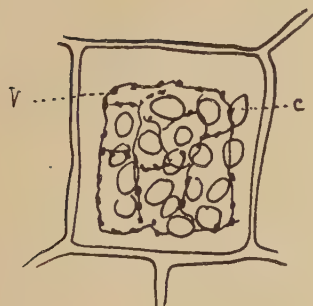


Fig. 3

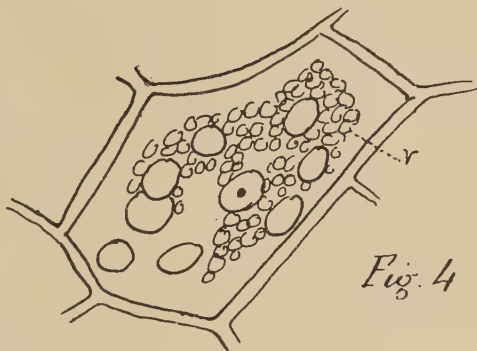


Fig. 4



Fig. 5

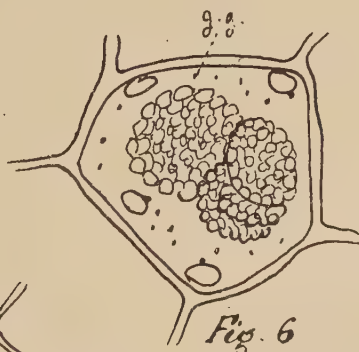


Fig. 6



Fig. 7



PLANCHE XI

Examen des modifications des cellules à corps oléiformes du *Radula complanata* Dum. sous l'influence d'un champignon parasite

Fig. 1, 2, 3, 4. Champignons dans les cellules. — Fig. 5, 6. Champignons dans les cellules: corps oléiformes digérés par l'hôte. ...
Fig. 7, 8, 9. Champignons dans la membrane.



Fig. 1

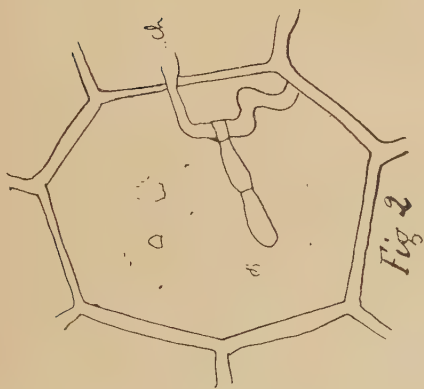


Fig. 2

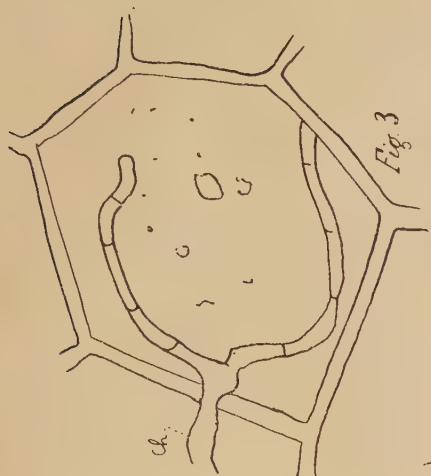


Fig. 3

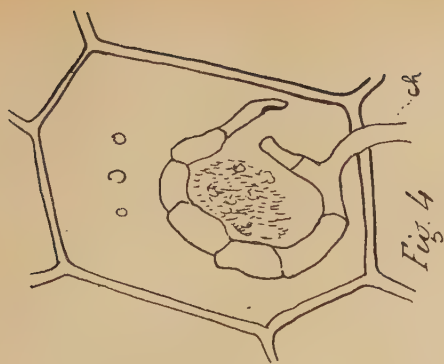


Fig. 4



Fig. 6



Fig. 7

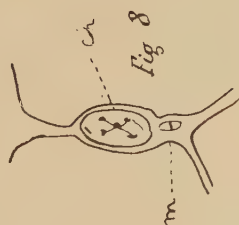


Fig. 8



Fig. 9

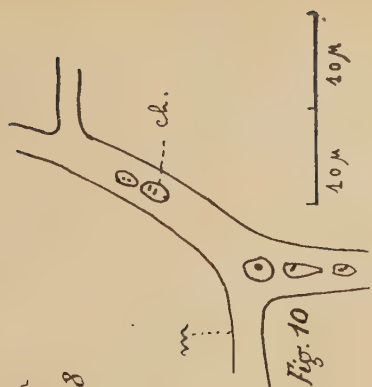


Fig. 10

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- BEAUVÉRIE (J.). — Etude des modifications morphologiques et anatomiques des thalles de *Marchantia* et *Lunularia* obtenues expérimentalement. Ann. de la Soc. Linnéenne de Lyon, 1897, t. XLIV, page 57.
- BIERMANN. — Beitr. zur Kenntniss der Entwicklungsgeschichte der Früchte von *Citrus vulgar*. Inaugural Dissertation, Bern, 1896.
- BONNIER. — Cours de Botanique, 1901.
- BOULAY (l'abbé). — Muscinées de la France, 2^e partie, Hépatiques, 1904.
- BOKORNY. — Pharm. Centralhalle für Deutschland, 1901, n^o 11-12, p. 181.
- CASARES-GIL (A.). — Flora Iberica. Briofitos (primera parte) Hepaticos, 1909. Museo Nacional de Ciencias naturales, Madrid (Hipodromo).
- CHARABOT et GATIN. — Le parfum chez les plantes. Encyclopédie scientifique 1920.
- CHARABOT et LALONE. — Siège de la formation des essences. Bulletin de la Société chimique, 1914.
- COMBES (R.). — Recherche des pseudo-bases d'anthocyanidines dans les tissus végétaux. C. R. Ac. Sc., 3 janvier 1922, p. 58.
- Sur la formation des pigments anthocyaniques. C. R. Ac. Sc., 23 janvier 1922, p. 240.
- COPPEY. — Muscinées des environs de Nancy. Bull. des séances de la Soc. des sc. de Nancy, t. X, fasc. II, série III, 1909, p. 83; t. XI, fasc. III, série III, 1910, p. 181.
- COSTANTIN. — Les végétaux et les milieux cosmiques, 1898, p. 211.
- DANGEARD (P.-A.). — Sur la reproduction sexuelle chez le *Marchantia polymorpha* dans ses rapports avec la structure cellulaire. C. R. Ac. Sc., 14 janvier 1924. p. 267.

- DANGEARD (P.). — Recherches de biologie cellulaire. (Evolution du système vacuolaire chez les végétaux.) Th. sc. nat., Paris 1923, série A, n° 943, n° d'ordre 1767.
- DAVY DE VIRVILLE (Ad.) et DOUIN (R.). — Sur les modifications de la forme et de la structure des Hépatiques, maintenues submergées dans l'eau. C. R. Ac. Sc., 1921, p. 1306.
- DETTO (Carl). — Über die Bedeutung der ätherischen Ole bei Xerophyten. Flora 1903, 92 Bd., p. 147.
- Dictionnaire des sciences naturelles par plusieurs professeurs du jardin du Roi et des principales écoles, 1821, t. XXI, p. 9.
- DUFRENOY. — Origine des résines chez les pins. Rev. générale des sc. pures et appliquées, 15 janvier 1918, p. 3.
- GARJEANNE. — Die Olkörper der Jungermaniales. Flora 1903, 92 Bd., p. 457-482.
- GILDMEISTER und Fr. HOFFMANN. — Die ätherischen Ole, t. I, 1912, t. II, 1913.
- GODRON. — Catalogue des plantes cellulaires du département de la Meurthe, 1843, p. 8.
- GÖBEL (K.). — Über d. Regeneration im Pflanzenreich. Biol. zentr., 1902, t. XXII, p. 385.
- Organographie der Pflanzen. Erster Teil, 1913, p. 13.
- GOLENKIN. — Die Mycorrhiza ähnlichen bildungen der Marchantiaceen. Flora 1902. Bd. 90, p. 29-229.
- GOTTSCH. — Anato-physiol. Unters. über *Haplomitrium* Hookeri (Verhandl. der Leopold Carol. Akademie), 1843, Bd. XII, Abt. I, p. 287-288.
- GUILLIERMOND et MANGENOT — Observations cytologiques sur le mode de formation des essences. C. R. Ac. Sc., 1^{er} octobre 1923, p. 600.
- HANSTEIN. — Ueber die Organe der Harz-und Schleim-Absonderung in den Laubknospen. Botanische Zeitung, 1868, p. 707.
- HIERONYMUS. — Beiträge z. Morphologie und Biologie d. Algen. Cohns Beiträge, 1889, Bd. 5, p. 468.
- HOFMEISTER. — Die Lehre v. d. Pflanzenzelle, 1867, p. 396.
- HOLLE (von). — Über die Zellenbläschen der Lebermoose Leop. Carol. Akad. Heidelb., 1857, p. 12.
- HURRIER (P.). — Matière médicale et pharmacopée sino-annamite, 1907, p. 73.
- HUSNOT (T.). — Flore analytique et descriptive des Hépatiques de France et des contrées voisines, 1922.

- JONESCO (St.). — Les pigments anthocyaniques et les phlobotannins chez les végétaux C. R. Ac. Sc., 13 novembre 1922.
- JONSSON et OLIN. — Der Fettgehalt der Moose. Lunds Universitets Arsskrift, 1898, 34 Bd., Afd. n° 1, p. 32.
- KUSTER (von). — Die Olkörper der Lebermoose und ihr Verhältnis zu den Elaioplasten Diss. Basel, 1894.
- KOZLOWSKI (Antoine). — Sur l'origine des oléoleucites chez les Hépatiques à feuilles. C. R. Ac. Sc., 19 septembre 1921, p. 497-499.
- LAROUSSE (Pierre) — Grand dictionnaire Universel du XIX^e siècle, 1873.
- LESAGE (Pierre). — Modif. de la forme et des dimensions du Fegatella conica. Bull. Soc. sc. méd. de l'Ouest, 3 décembre 1915.
- Cultures expérimentales de Fegatella conica et quelques autres Muscinées. C. R. Ac. Sc., 1921, p. 1521-1523.
- LIMPRICHT. — Kryptogamen-Flora von Schlesien, 1876, p. 242.
- LINDBERG. — Ueber das Vorkommen von aetherischen Oelen in Leber-Moosen. Flora, 1862, p. 545
- LOHMANN. — Beitrag zur Chemie und Biologie der Lebermoose. Beihefte zum botanischen Centralblatt, 1903, Bd. XV, p. 215-216.
- MANGENOT. — Recherches sur les constituants morphologiques du cytoplasme des Algues. Paris Th. sc. nat., 1921-1922, n° 1709, série A, n° 894.
- MASSARD (Jean). — L'action de la lumière continue sur les structures des feuilles. Rec. Inst. Bot. Léo. Errera XII, 1922, p. 148.
- MESNARD. — Recherches sur la formation des huiles grasses et des huiles essentielles dans les végétaux Annales des sc. naturelles. Botanique, 1894, 7^e série, A. XVII, p. 392.
- MEYLAN. — Les Hépatiques de la Suisse, 1924. Fretz frères S. A. libraires-éditeurs.
- MEYER (Arthur). — Morphologische u. physiologische Analyse der Zelle der Pflanzen u. Tiere I. T. Jena, 1920, p. 350-352.
- MIRBEL. — Recherches anatomiques et physiologiques sur le Marchantia polymorpha. Mémoires de l'Acad. royale des sciences de l'Inst. de France, 1835, t. XIII, p. 345.
- MOLISCH (Hans). — Microchemie der Pflanzen, 1921, p. 394.
- MOREAU (M. et M^{me}). — Etude des phénomènes sécrétoires dans les glandes à lupuline chez le Houblon cultivé. Rev. génér. Bot., t. 34, 1922, p. 193.

- MOTTIER (D.-M.). — Chondriosomes and the Primordia of chloroplasts and Lencoplasts. *Ann. of. Botany*, vol. XXXII, 1918, p. 91.
- Plastids. *Proceedings of national. Academy of science*, 1918.
- MULLER (Karl). — Beitrag zur Kenntniss der ätherischen Ole bei Lebermoosen. *Zeitschr. für physiol. Chem.*, 1905, p. 299-319.
- Die Lebermoose Deutschlands, Oesterreichs u. d. Schweiz, 1906-1911, Abtheilung I, p. 50.
- NAGEOTTE. — Sur la valeur de l'ultramicroscope dans l'investigation histologique. *C. R. Ac. Sc.*, 3 juin 1918.
- NÉMEC. — Die Mykorrhiza einiger Lebermoose. *Ber. der deutschen Bot. Ges.* 1899, Bd. 17, p. 311.
- PFEFFER (W.). — Die Oelkörper der Lebermoose. *Flora* 1874, Nr. 1-3, p. 2, 17, 33.
- POLITIS (Jean). — Du rôle du chondriome dans la formation des essences dans les plantes. *C. R. Ac. Sc.*, 11 juillet 1921, p. 98-100.
- RACIBORSKI. — Über d. Entwicklungsgesch. d. Elaioplasten d. Liliaceen. *Anzeiger d. Akad d. Wissensch. in Krakau*, 1893, p. 259.
- RATTRAY (J.). — Transactions and Proceedings of the Bot. Society of Edinburgh, 1884, vol. XVI, part. I, p. 127-128.
- RAYBAUD (L.). — Essai de petit germoir automatique de laboratoire. *Rev. génér. de Bot.*, 1924, t. XXXVI, p. 193.
- SACHS (J.). — Über orthotr. u. plagiotr. Pflanzenteile. *Gesam Abhdl. XXXVIII*, 1878.
- SCHACHT. — *Lehrb. d. Anat. und Physiol. d. Gewächse*, 1856, p. 60.
- SCHERRER (A.). — Die Chromatophoren und Chondriosomen von Anthoceros. *Ber. d. deutsch. bot. Gesell.*, 1913, t. XXXI.
- STAHL (E.). — *Pflanzen und Schnecken*. Jena 1888, p. 49, 54, 106, 108.
- TSCHIRCH. — *Die Harze und die Harzebehälter*, 1900, Leipzig.
- TSCHIRCH et BIERMANN. — *Arch. der Pharmacie*, 1898, A. CCXXXVI.
- TIEGHEM (Van). — *Traité de Botanique*, 1884, p. 520.
- WAKKER (J.-H. von). — *Studien über die Inhalts der Pflanzenzelle*. Pringsch. *Jahr. für wissenschaftliche Botanik*, 1888.
- WARNSTORF. — *Leber- und Torfmoose*, 1903, Leipzig.
- WIESNER. — *Die Rohstoffe des Pflanzenreichs*, I, 1900, p. 516. Sitzungsberichte der Wiener Akademie.
- WILKE. — *Über die anatomische Beziehung des Gerbstoffes zu den Sekrethehalten der Pflanze*. Inaug. Dissert. Halle, 1883.
-

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté :

Question de Zoologie :

L'hypophyse : anatomie comparée et physiologie.

Question de Géologie :

L'éocrétacé du bassin de Paris.

Vu et approuvé :

Paris, le 5 décembre 1925

Le doyen de la Faculté des Sciences,
M. MOLLIARD.

Vu et permis d'imprimer :

Le recteur de l'Académie de Paris,
P. LAPIE.



TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS	I
INTRODUCTION	3
Historique	3
Etat actuel de la question.....	5
Plan	5
Récolte des matériaux.....	6
Technique	9

CHAPITRE I. — CARACTÈRES GÉNÉRAUX

1° CARACTÈRES EXTÉRIEURS. — Présence, situation, forme, nombre, grandeur des corps oléiformes des Hépatiques des environs de Nancy.....	13
2° CARACTÈRES INTIMES. — Structure	22
Histoire et définitions.....	22
I. <i>Stroma des corps oléiformes</i>	25
a) Expériences.....	25
1° Examens sur le frais.....	25
2° Examens après colorations vitales.....	25
3° Propriétés physiques	25
4° Propriétés chimiques	26
5° Action des fixateurs.....	27
6° Action des fixateurs et colorants.....	28
7° Observations au Bitumi et à l'ultra-microscope....	29
8° Résumé	29
b) Discussion des théories.....	29
c) Conclusion	30

II. <i>Membrane</i>	31
a) Historique	31
b) Expériences	31
1° Observations sur le frais.....	32
2° Propriétés physiques	32
3° Examens après colorations vitales.....	33
4° Propriétés chimiques	34
5° Action des fixateurs.....	34
6° Action des fixateurs et colorants.....	34
7° Observations au Bitumi et à l'ultra-microscope....	31
8° Résumé	35
c) Discussion des théories.....	35
d) Conclusion	35
III. <i>Vacuole</i>	36
a) Historique.....	36
b) Discussion des théories.....	36
c) Expériences	37
d) Conclusion	38

CHAPITRE II. — NATURE DES CORPS OLÉIFORMES

1° HISTORIQUE	39
2° ESPÈCES ÉTUDIÉES	43
1° <i>Radula complanata</i> Dum.....	44
Etude microscopique du corps oléiforme au point de vue physico-chimique	44
1/ Propriétés physiques des globules et du li- quide vacuolaire	44
A. Liquide vacuolaire.....	45
a) Expériences de diffusion des solutions.	45
b) Etude de la coloration brune; spec- tre	46
c) Variations avec les phénomènes de plas- molyse et de turgescence.....	48
d) Action de la température.....	50

B. Globules réfringents	52
a) Morphologie	52
b) Anatomo-histologie	52
c) Réfringence	52
d) Couleur des globules.....	54
e) Emulsion de globules gros et petits....	55
f) Mouvement	57
g) Solubilité	59
h) Action de la température.....	59
2/ Propriétés chimiques.....	60
A. Liquide vacuolaire brun.....	60
a) Colorations vitales.....	60
b) Recherche de la basicité ou de l'acidité.	62
c) Réactions chimiques spécifiques.....	62
d) Acides et bases.....	63
e) Sels et solutions.....	63
f) Fixateurs	63
g) Fixateurs et colorants.....	65
B. Globules réfringents.....	65
a) Colorations vitales	65
b) Recherche de la basicité ou de l'acidité.	65
c) Colorations spécifiques	66
d) Actions des acides.....	68
e) Action des bases.....	68
f) Action des sels et solutions.....	69
g) Fixateurs	70
h) Fixateurs et colorants.....	71
Etude physico-chimique des produits de la distillation	
du <i>Radula complanata</i> Dum.....	74
1/ Essence	74
a) Distillation	74
b) Caractères physico-chim. du distillat...	75
c) Constitution chimique	78
2/ Tannin	79
a) Propriétés physiques	79
b) Propriétés chimiques	80

2° Etude des Hépatiques des environs de Nancy.....	81
3° Etude des Hépatiques étrangères à notre région.....	87
3° PRODUITS A DISTINGUER DE L'ESSENCE ET DU TANNIN DES CORPS OLÉIFORMES	90
A. Produits à distinguer de l'essence.....	91
a) Amidon	91
b) Cire	91
c) Inuline	91
d) Graisse	92
α) Présence de graisse chez quelques Hépatiques..	92
β) Le corps oléiforme ne contient pas de corps gras.	96
γ) Le corps oléiforme est composé de globules d'essence	99
δ) La graisse se trouve sous forme de petites inclusions protoplasmiques	99
B. Produits à distinguer du tannin.....	100
a) Phlobotannins	100
b) Pigments anthocyaniques	101
4° CONCLUSION	102

CHAPITRE III. — CYCLE ONTOGÉNÉTIQUE DES CORPS OLÉIFORMES

Origine, développement, apogée, déclin, mort.....	105
1° ORIGINE DES SUBSTANCES CONSTITUÉES.....	105
1/ Historique	105
2/ Discussion des théories.....	107
A. Théories sur l'origine des corps oléiformes.....	107
B. Théories sur l'origine de l'essence et du tannin.....	109
3/ Hypothèse	114
4/ Expériences	115
a) Observations vitales	115
b) Observations des coupes fixées.....	119
5/ Conclusions	121

2° DÉVELOPPEMENT	122
3° APOGÉE	124
4° DÉCLIN	125
5° MORT	125

CHAPITRE IV. — INFLUENCE DU MILIEU

1° HISTORIQUE	127
2° EXPÉRIENCES	129
1/ <i>Facteurs écologiques primaires</i>	130
A. Physiques	130
a) La lumière	130
b) L'eau	140
c) La température.....	150
d) Le substratum	151
e) Les influences mécaniques.....	152
B. Biologiques	158
1° Les animaux	158
2° Les champignons	163
2/ <i>Facteurs écologiques secondaires</i>	166
1° La transpiration	166
2° Les saisons	167
3° La concurrence vitale.....	167
4° L'hérédité	168
3° CONCLUSION	168

CHAPITRE V

CONCLUSIONS GÉNÉRALES	171
-----------------------------	-----

NANCY - SOCIÉTÉ D'IMPRESSIONS TYPOGRAPHIQUES

